C. COTUȚIU

Sorana DOBRE

ELEMENTE DE IMUNOLOGIE STOMATOLOGICĂ

COLECȚIA CHIRON

EDITURA APOLLONIA - IAȘI 1997

Scanned with OKEN Scanner

Tehnoredactare computerizată: Carmen GRIGORIU, Remus STOIAN

©Copyright 1997

ISBN 973-95585-9-3

Scanned with OKEN Scanner

C. COTUȚIU

Sorana DOBRE

ELEMENTE DE IMUNOLOGIE STOMATOLOGICĂ

PENTRU STUDENȚI

EDITURA APOLLONIA
IAȘI 1997

Scanned with OKEN Scanner

Cuprins

		pag.
	Introducere	8
Cap.I	**Imunitatea naturală sau înnăscută**	10
	Factori tisulari	10
	Factori celulari	12
	Factori umorali	16
Cap.II	**Antigene, imunogene**	18
	Organizare lineară și conformațională	20
	Condițiile imunogenicității	21
	Specificitatea antigenică	24
	Forțele care intervin în reacția antigen-anticorp	25
	Relația între structura antigenului și natura răspunsului imun	26
Cap.III	**Imunoglobulinele**	28
	Clasele de imunoglobuline	31
	Structura primară a imunoglobulinelor	36
Cap.IV	**Sistemul complement**	40
	Activarea complementului	42
	Consecințele biologice ale activării complementului	47
Cap.V	**Sistemul imun**	50
	Celulele sistemului imun	52
	Heterogenitatea limfocitelor	55
	Markerii și receptorii limfocitelor	56
	Limfocitele T	57
	Limfocitele B	58
	Receptorii de recunoaștere ai antigenelor	58
	Limfocitele K, NK, LAK	60
	Celulele prezentatoare de antigeni	60

Scanned with OKEN Scanner

Cap.VI **Organizarea sistemului imun** **62**
Organele limfatice primare 62
Organele limfatice secundare 65

Cap.VII **Complexul major de histocompatibilitate** **66**
Rolul imunologic al antigenelor HLA 68

Cap.VIII **Dinamica răspunsului imun** **70**
Receptori 70
Molecule de adeziune 71
Moleculele de comunicare 73
Răspunsul imun mediat celular 73
Diferențierea limfocitelor T citotoxice; mecanismele citolizei 75
Răspunsul umoral 76
Citokine 79
Reglarea răspunsului imun 83

Cap.IX **Stările de hipersensibilitate** **90**
Hipersensibilitatea imediată tip I 91
Hipersensibilitatea imediată de tip II 103
Hipersensibilitatea imediată de tip III 110
Hipersensibilitatea imediată de tip IV

Cap.X **Sistemul limfatic atașat mucoaselor** **123**
Aspecte generale 123
Sistemul limfatic asociat tubului digestiv 125
Funcțiile efectoare ale imunității mucoaselor 126
Migrarea limfocitelor mucoaselor 127
Relații între sistemul imun local și cel sistemic 127

Cap.XI **Autoimunitatea** **129**
Toleranța imunologică 130
Toleranța față de proprii antigeni 131
Clasificarea bolilor autoimune 132
Mecanisme de producere a leziunilor 134
Etiopatogenia bolilor autoimune 155

Cap.XII **Reacții imune bucale** **141**
Placa dentară 142
Răspunsuri imunitare față de placa bacteriană 145

Scanned with OKEN Scanner

Cap.XIII **Componente imune în bolile cavității bucale** 154
Localizări bucale în boli alergice 154
Boli autoimune mucocutanate 155

Cap.XIV **Boli parodontale** 162

Cap.XV **Caria dentară** 171
Caria dentară, boală infecțioasă 171
Imunizarea naturală față de ag. str. mutans 176
Mecanismul producerii cariei dentare 177
Mecanisme ale acțiunii anticorpilor 178

Cap.XVI **Aspecte imunologice ale neoplaziilor** 180

Material bibliografic utilizat 191

Scanned with OKEN Scanner

INTRODUCERE

Imunologia, prin definiție, studiază fenomenul de imunitate. Termenul **imunitate** - preluat din limba latină (immunis, immunitas) a apărut în antichitate, semnificând în principal rezistența crescută a organismului față de infecții. Ea s-a dezvoltat în cadrul bacteriologiei, până prin 1898 când Bordet a demonstrat că organismul reacționează și față de hematii provenind de la alte specii sau chiar în cadrul aceleași specii. Prin evidențierea de către Landsteiner (1900) a grupelor sanguine, imunologia capătă un sens mai larg, semnificând mecanismele biologice prin care organismul reacționează asupra unor substanțe biologic străine.

Ulterior s-a demonstrat că în cadrul acestor mecanisme acționează celule și factori umorali, care în ansamblul lor realizează un sistem organizat de apărare, în vederea menținerii integrității morfo-funcționale a organismului.

Numeroasele cercetări care au urmat, și care au cunoscut un ritm deosebit de alert după anii 1955-60, au evidențiat existența a două grupe de mecanisme majore de apărare care la organismele superioare cooperează și se potențează reciproc.

a) Apărarea nespecifică sau **imunitatea naturală** sau înnăscută, care devine operantă de la începutul unei agresiuni și nu are specificitate față de agentul cauzal.

b) Apărarea specifică sau **imunitatea câștigată,** care se adresează în mod specific agentului agresor, dar care necesită un prealabil contact cu acesta. Acest tip de imunitate se caracterizează și prin capacitatea de a discrimina între tot ceea ce este propriu (self) în constituția organismului și ceea ce este străin (non self) față de acesta. Imunitatea câștigată apare și apoi se dezvoltă mai târziu pe scara filogenetică.

Reacțiile imune specifice, deși de cele mai multe ori sunt

Scanned with OKEN Scanner

benefice organismului, uneori, datorită dereglării sistemului imun, sub influența a variați factori (constituționali, de mediu extern sau intern etc) pot deveni dăunătoare propriului organism, prin intensitatea lor **(reacții de hipersensibilitate)** sau prin afectarea unor componente proprii **(autoimunitate)**.

Insuficienta dezvoltare a sistemului imun (sau a unor componente ale acestuia) determină o sensibilitate crescută a organismului față de agenți mai ales infecțioși, stări cunoscute sub denumirea de **imunodeficiență**.

S-au acumulat tot mai multe date care atestă participarea sistemului imun și la dezvoltarea și evoluția tumorilor maligne.

Toate aceste aspecte se înscriu în domeniul **imunopatologiei** și a **imunologiei clinice.**

Nu trebuie pierdut însă din vedere faptul că organismul în toată complexitatea lui funcționează ca un sistem organizat cu multiple căi de reglare, coordonare intercelulare, intertisulare și intersistemice. Sistemul imun se dezvoltă și funcționează în cadrul acestui sistem, influențând organismul, dar fiind și influențat de acesta.

Stomatologia, ca specialitate medicală a beneficiat de acumularea cunoștințelor de imunologie generală și de imunopatologie, permițându-i pătrunderi mai adânci în cunoașterea bolilor proprii cavității bucale (caria dentară, boala parodontală) cât și a bolilor generale cu componentă imună care se manifestă la nivelul cavității bucale.

Este de neconceput astăzi de-a înțelege medicina, indiferent de specialitate fără a avea un solid trepied alcătuit din: biologie celulară și moleculară, genetică și imunologie. Aceste cunoștințe permit practicarea unei medicini științifice, utilizarea mijloacelor de diagnostic și investigare adecvată și tratamente raționale adaptate și particularizate.

Scanned with OKEN Scanner

IMUNITATEA NATURALĂ SAU ÎNNĂSCUTĂ

Totalitatea mijloacelor de apărare înnăscute prin care organismul se opune pătrunderii unor agenți dăunători, în special infecțioși constituie imunitatea naturală, nespecifică sau înnăscută.

Caractere. După cum o indică și numele această apărare este:

- *nespecifică* - ea este îndreptată împotriva agenților infecțioși în general, nu unuia în mod special. Indiferent de tipul sau proprietățile intrinseci ale microorganismului, reacția este similară.
- *înnăscută* - Fiecare organism se naște cu aceste capacități de apărare, care sunt influențate de factori "constituționali" și mai puțin de cei de mediu ambiant.
- *lipsită de memorie imunologică* - Intensitatea și eficiența apărării naturale este egală pe parcursul vieții indiferent dacă organismul a mai avut contacte anterioare cu același agent patogen. Lipsa memoriei imunologice determină și lipsa amplificării răspunsului de apărare și deci a eficienței acestuia la un nou contact cu același agent patogen.

Imunitatea naturală conferă apărare nevertebratelor, și este prima care intervine în cazul vertebratelor.

Componente. În general apărarea naturală se realizează prin factori tisulari și celulari, factori umorali, la care se adaugă factorii "constituționali" genetic determinați.

Factorii tisulari

Pentru ca un agent patogen să se manifeste, este necesară pătrunderea sa în mediul intern al organismului. Aceasta este împiedicată de către bariera cutanată și de către mucoase.

Bariera cutanată. Pielea integră, prin structura sa nu permite pătrunderea agenților patogeni. În plus suprafața cutanată are un

Scanned with OKEN Scanner

pH acid prin acidul lactic și acizii grași rezultați din secreția glandelor sudoripare și sebacee. Rolul integrității învelișului cutanat devine evident în cazul arsurilor, când suprafețele denudate facilitează infecția loco-regională sau chiar generală.

Mucoasele tapetează cavități în care se găsesc sau pot pătrunde agenți patogeni. La nivelul mucoaselor acționează mai multe mijloace de apărare:

a) *mijloace mecanice* datorită elementelor de structură: epiteliul stratificat pavimentos în zone de contact direct cu mediul extern, cavitatea bucală, faringe, esofag, epiteliul anterior al corneei, vagin.

Prezența cililor mobili la nivelul căilor respiratorii facilitează eliminarea spre exterior a agenților dăunători: celulele caliciforme sintetizante de mucus produc un adevărat adeziv care captează particole sau bacterii.

b) *mijloace chimice*: secrețiile digestive ca și urina mențin un pH nefavorabil dezvoltării florei patogene. La nivelul cavității bucale un rol important îl joacă saliva care între altele conține *lizozim*, o neuraminidază (enzimă) capabilă să rupă legăturile între N-acetilglucozamină și acidul N-acetilneuraminic din constituția mucopeptidului pereților bacterieni. Lizozimul este prezent și în alte secreții (lacrimi) și în unele celule (granulocite). Prin activitatea sa enzimatică are efect bactericid. Saliva mai conține de asemenea peroxidază și lactoferină. Nu este de neglijat nici permanenta acțiune de spălare pe care o realizează saliva, datorită unui "debit salivar de repaus", în lipsa oricărui stimul neurovegetativ, și care atinge în jur de 19 ml/oră. La bolnavii de sindrom Sjögren (boală autoimună însoțită de scăderea marcată a secreției salivare și lacrimale) infecțiile conjunctivale și stomatitele sunt frecvente.

La nivelul mucoaselor mai intervine și competitivitatea între flora saprofită și cea patogenă, sau efectul florei saprofite (ex: bacilul Doderline în vagin) asupra glicogenului produs de epiteliul mucoasei, pe care-l hidrolizează în acid lactic.

Scanned with OKEN Scanner

Factorii celulari

Reprezintă elemente de apărare naturală care acționează în cazul în care agentul patogen a străbătut barierele naturale și a pătruns în mediul intern.

Fagocitele reprezentate de polimorfonucleare neutrofile și macrofagele tisulare sunt celule cu origine în măduva osoasă a căror funcție majoră este procesul de fagocitoză descris de Metchnikoff (1884).

Polimorfonuclearele sunt elemente figurate în sânge.

Granulocitele neutrofile au nuclei polilobați și în citoplasmă conțin două tipuri de granulații: primare sau azurofile care conțin mieloperoxidază, lizozim, proteine cationice, enzime hidrolitice, și secundare sau specifice care conțin fosfatază acidă, lizozim, lactoferină. Citoplasma mai conține incluzii de glicogen, utilizabil în condiții anaerobe prin glicoliză. Aceste celule au viață scurtă (6-8 zile) și proprietatea de a părăsi circulația prin diapedeză în special la nivelul venulelor postcapilare.

Macrofagele au un precursor comun cu granulocitele neutrofile; în măduva osoasă se multiplică și se diferențiază în monociți care aproximativ după 3 zile de circulație în sânge trec în țesuturi, alcătuind populația celulară componentă a sistemului mononuclear fagocitar.

Sunt celule mononucleare, cu câteva granulații azurofile în citoplasmă, bogate în enzime lizozomale. Ele sunt celule de viață lungă (100 zile) și își mai păstrează o oarecare capacitate de mitoză.

Ambele celule exprimă receptori Fcγ și CR (pentru IgG și fracțiuni C3 - vezi cap. ulterioare).

Mecanismul fagocitozei: se desfășoară în mai multe etape.

Afluxul fagocitelor spre zona în care a penetrat agentul patogen (bacterie) sub influența unor *factori chemotactici* pozitivi; datorită creșterii permeabilității vasculare, prin diapedeză se realizează o aglomerare locală de fagocite, granulocite neutrofile în prima etapă, macrofage într-o etapă ulterioară. Factorii

Scanned with OKEN Scanner

chemotactici sunt molecule de origine tisulară, bacteriană sau serică (vezi cap. complement). Există și unii factori chemotactici negativi, cum ar fi endotoxinele glico-lipoproteice de origine bacteriană.

Aderența fagocitelor pe suprafețele bacteriene care poate fi datorită unor mecanisme de recunoaștere primitivă, probabil a unor molecule glucidice pe suprafața bacteriei sau în cazul opsonizării bacteriei (prezența pe membrană a IgG și/sau fracțiunii C3 a complementului) prin intervenția receptorilor Fcγ și CR. Aderența determină activarea unor filamente de actină și miozină submembranare care vor determina extinderea de pseudopode; aceste pseudopode se vor atașa progresiv pe suprafața particulei din aproape în aproape datorită legării receptorilor de pe fagocit cu moleculele de pe suprafața particulei. Mecanismul a fost descris de Zimmerman sub numele de *mecanism în fermoar*.

Endocitoza sau interiorizarea particulei este urmarea extinderii pseudopodelor până la înglobarea completă a particulei într-o vacuolă intracitoplasmatică denumită *fagozom*. Procesul în sinea lui nu este propriu fagocitelor; toate celulele organismului au proprietatea de a prelua molecule din mediul intern prin endocitoă sau pinocitoză. Particular fagocitelor este dezvoltarea mare a acestei proprietăți care este îndreptată împotriva unor structuri de dimensiuni mai mari (cum ar fi o bacterie) și care este o particulă străină (figura 1).

Degradarea particulei fagocitate se realizează prin două mecanisme:

Mecanismul oxigenodependent. Încă din faza de adeziune se observă o creștere a activității șuntului hexozomonofosforic cu generare de NADPH care acționează asupra unui citocrom membranar cu intens consum de oxigen. Oxigenul generează radicali oxigenați liberi (R.O.L.) ca anion superoxid, peroxid, radicali hidroxili, toți cu putere bactericidă. Prin intervenția

Scanned with OKEN Scanner

peroxidazei asupra peroxizilor iau naștere și compuși halogenați de asemenea bactericizi.

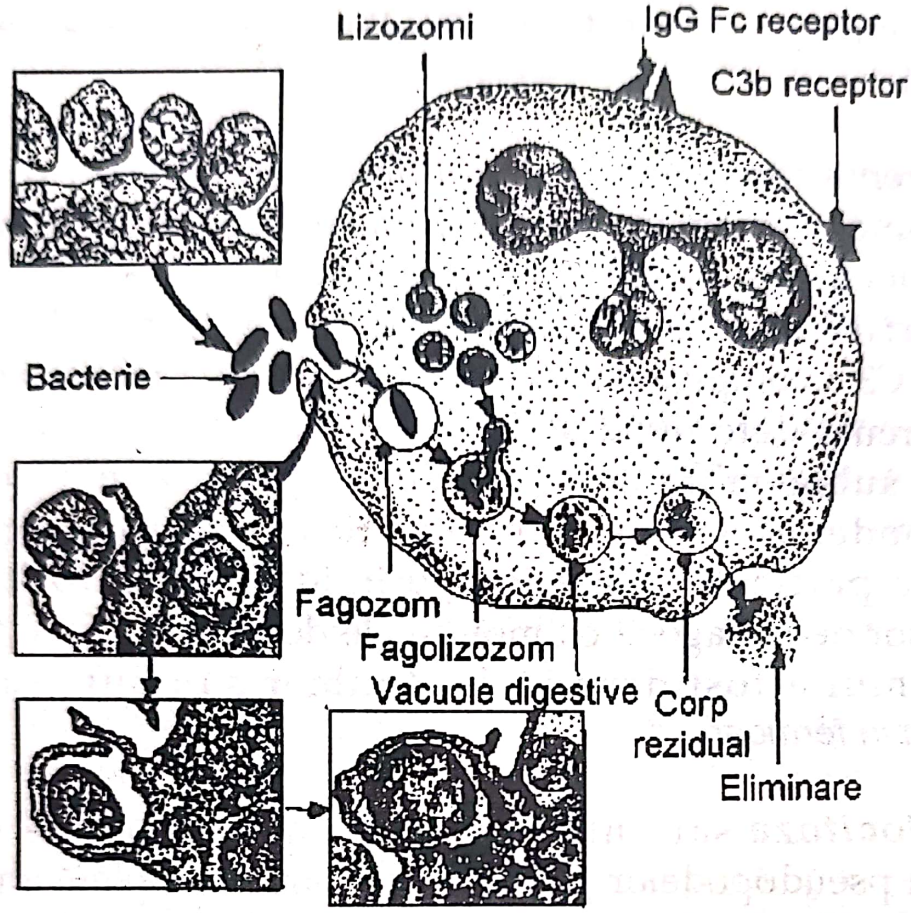


Figura 1 - **Desfășurarea fagocitozei**

- *Mecanismul oxigen independent*. După fuziunea fagozomului cu lizozomii și formarea fagolizozomilor, microorganïsmele fagocitate sunt atacate de proteinele cationice, proteinaze neutre, lizozim, lactoferină și digerate de enzimele lizozomale hidrolitice. Resturile procesului de degradare pot fi eliminate în exteriorul celulei sau pot rămâne ca reziduuri intracelulare.

Granulocitele neutrofile fiind celule înalt diferențiate, cu organite celulare reduse, nu-și mai pot reface membranele epuizate și nici bagajul enzimatic consumat în timpul fagocitozei. Din acest motiv după 2-3 fagocitoze ele degenerează, contribuind la formarea puroiului în focarul inflamator.

Macrofagele, având organite bine dezvoltate și o activitate metabolică și de sinteză conservate, pot realiza multiple fagocitări până la degenerarea lor. Adesea ele fagocitează chiar granulocitele

Scanned with OKEN Scanner

degenerate.

Este de menționat însă că în unele cazuri fagocitoza este ineficientă, fie datorită microorganismului, fie datorită dereglării mecanismului fagocitozei. Astfel unii germeni cum ar fi micobacteria nu este digerabilă și rămâne intracelular (în macrofage). Ricketsiile se multiplică intracelular, iar virusurile nu se pot multiplica decât intracelular (microorganisme intracelulare obligatorii). În alte situații apar deficiențe de chimiotactism, deficit de mieloperoxidază sau alte perturbări care fac obiectul imunopatologiei.

Limfocitele NK (natural killer) ucigașe naturale. Reprezintă o subclasă a limfocitelor cu proprietăți citotoxice naturale, nespecifice. Ele au fost individualizate mai recent, ca *limfocite mari granulare*. Aceste celule recunosc molecule glicoproteice de greutate moleculară mare care sunt exprimate pe membrana celulelor infectate cu virus, dar *indiferent de tipul de virus*. În vederea citolizei contactul intim și adeziunea celulelor NK față de celula țintă este obligatorie. Aceste contacte determină semnale intracelulare a căror consecință va fi eliberarea conținutului granulelor în mediul extracelular. Aceste granule conțin *perforine sau citolizine* - complexe moleculare capabile să perforeze membrana celulei țintă (infectată cu virus) provocând astfel dezorganizarea ei, implicit a virusului care nu se poate replica decât în interiorul unei celule vii. Granulele conțin și proteoglicani, în special condroitin sulfat, care are rolul de a proteja celula NK față de perforine, fiind rezistentă la acțiunea acestora.

Activitatea limfocitelor NK este stimulată de interferoni și interleuchina 2.

O serie de observații atestă o activitate citolitică a celulelor NK și față de celulele tumorale maligne.

Scanned with OKEN Scanner

Factori umorali

În paralel cu factorii celulari, în ser și celelalte umori ale organismului se găsesc o serie de factori (molecule solubile) circulanți cu potențial bactericid direct, stimulat de prezența unui agent patogen. Ei nu acționează în mod separat, ci în mod concertat, și în interrelație cu factorii celulari.

Proteinele de fază acută. Sunt reprezentate de proteine plasmatice a căror sinteză este stimulată de prezența în special a bacteriilor ceea ce determină o importantă creștere a nivelului lor seric. Aceste proteine sunt reprezentate de: proteina C reactivă, α 2-macroglobulina, ceruloplasmina, α1-antitripsina, proteina A serică.

Sub acțiunea germenilor prin endotoxine este stimulată sinteza de interleuchină 1(Il - 1) care induce sinteza hepatică până la de 100 ori a proteinelor de fază acută, și care este și un factor pirogen, determinând creșterea temperaturii corpului defavorabilă multiplicării microorganismelor.

Proteina C reactivă un pentamer ciclic polipeptidic, are proprietatea ca, în prezența ionilor Ca++, să se fixeze pe structurile fosforilate din membranele bacteriene. Astfel bacteriile sunt mai ușor fagocitabile. În plus complexul format pe bacterii are proprietatea de a activa sistemul complement cu toate consecințele sale (vezi sistemul complement).

Sistemul complement este un complex de aproximativ 20 proteine serice cu rol esențial în imunitatea naturală, activarea lui având drept rezultat: citoliza, opsonizarea și producerea de factori chemotactici și alți mediatori ai inflamației (vezi Sistemul complement).

Interferonii descriși în 1957 de Isaacs și Lindenmann la vertebrate, formează un grup de substanțe care sunt sintetizate de celulele infectate cu virus, având apoi activitate antivirală (deci interferează efectul virusurilor, de unde și denumirea). Sinteza de interferoni mai este indusă și de alte microorganisme, endotoxine bacteriene, acizi nucleici străini, polimeri sintetici, fitohemaglutinină. Interferonii nu au specificitate față de inductor. Sinteza lor apare după o fază de latență de câteva ore, iar durata sintezei variază între câteva ore și câteva zile.

Scanned with OKEN Scanner

Interferonii pot fi grupați în:

– α interferoni (IFN α) produși în special de limfocite;

– β interferoni (IFN β) produși de fibroblaste și alte celule;

– γ interferoni (IFN γ) sau interferoni imuni care sunt interleuchine produse de limfocitele activate.

Celulele infectate cu virus sintetizează interferoni pe care-i elimină extracelular; ei se vor lega de receptori ai celulelor învecinate (neinfectate) conferindu-le rezistență față de penetrarea virusurilor.

Mecanismul de acțiune al interferonilor se consideră a consta în inducerea sintezei intracelulare a unor noi enzime:

- o proteinkinază care catalizează fosforilarea proteinelor ribozomale și a unui factor inițiator al sintezei proteice, reducând astfel translația mARN;

- a altă enzimă catalizează formarea unui polimer scurt al acidului adenilic, care activează la rândul său o endonuclează latentă; aceasta va degrada mARN atât al virusului cât și a celulei gazdă.

Interferonii mai au și alte proprietăți importante:

- stimularea activității citotoxice a limfocitelor NK;

- activitate antitumorală;

- modularea răspunsului imun prin inhibare sau stimulare de producere a efectorilor (anticorpi).

Anticorpii "naturali" se definesc ca anticorpi prezenți în ser în afara oricărei imunizări anterioare (ex. anticorpii sau izoaglutininele antiA și antiB din cadrul grupelor sanguine clasice).

În realitate este însă vorba despre anticorpi apăruți ca urmare a unor imunizări inaparente sau prin reacții încrucișate (vezi Antigene - Imunogene).

Rezultatul funcționării eficiente a imunității naturale este protecția organismului față de agenți patogeni, în special de natură bacteriană. Efectul morfologic al acestei apărări este procesul inflamator acut, sub variatele sale forme anatomo-clinice.

Scanned with OKEN Scanner

ANTIGENE, IMUNOGENE

Definiție. În prezent termenul *imunogen* este acordat oricărei substanțe care pătrunsă în organism este capabilă de a declanșa un răspuns imun de tip umoral sau mediat celular, având drept rezultat producerea de efectori ai răspunsului imun (anticorpi, celule sensibilizate, celule citotoxice).

Termenul de *antigen* este restrâns la acele substanțe care pătrunse în organism sunt capabile de a reacționa cu efectorii răspunsului imun determinat de un imunogen.

Rezultă de aici că orice *imunogen* este un antigen, dar nu orice *antigen* este și imunogen.

Moleculele mari sunt de obicei atât imunogene cât și antigene.

Moleculele mici de regulă pot fi antigene dar nu și imunogene.

În condiții obișnuite un imunogen este o substanță străină, care nu poate face parte dintre componenții structurali și moleculari ai unui organism, este un non-self (străin organismului). În condiții de reglare a funcționalității sistemului imun o substanță proprie - self - poate deveni imunogen, determinând starea de *autoimunitate*.

Haptena este o moleculă simplă, neimunogenă, ca de ex: dinitrofenolul (DNP), care pătrunsă în organism nu induce răspuns imun și deci nici efectori. Legată însă de o moleculă complexă, cum ar fi serumalbumina (S.A.) complexul SA-DNP devine imunogen și va induce răspuns imun cu producerea de efectori (anticorpi) antihaptenă (DNP) și antiserumalbumină (SA). La un astfel de organism sensibilizat, administrarea numai de DNP va determina reacția specifică între anticorpii antiDNP și haptenă.

Este de subliniat faptul că în unele cazuri cuplajul haptenă-purtător (carrier = cărăuș) se poate realiza și "in vivo", cu o

Scanned with OKEN Scanner

proteină proprie, transformând-o în imunogen (ex: în piele cu proteine cutanate se pot lega iodul, mercurul, nichelul, clorura de vinil etc.) (figura 2).

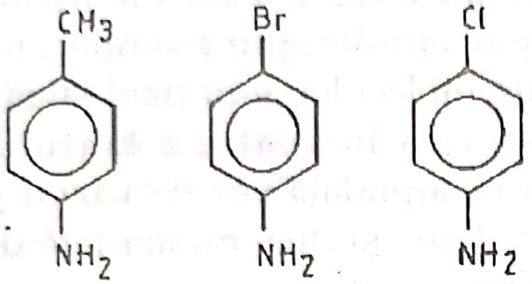


Figura 2 - **Haptenă: structura chimică nu influențează antigenicitatea**

Proprietatea unei substanțe de a induce un răspuns imun este definită ca *imunogenitate,* intensitatea acesteia fiind variabilă de la o substanță la alta. Reactivitatea specifică se definește ca *antigenitate* și este probabil de cea mai mare specificitate între toate reacțiile cunoscute în biologie.

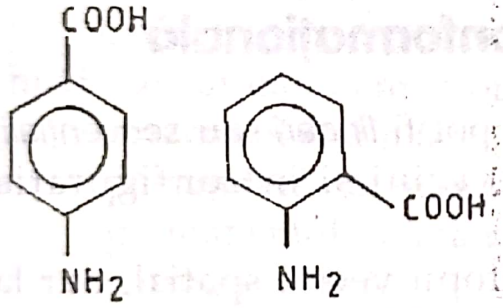


Figura 3 - **Haptenă: poziția valenței (orto, meta, para) modifică antigenitatea**

Epitopi sau determinanți antigenici. Un antigen nu reacționează cu efectorii (anticorpi de exemplu) prin întreaga sa moleculă. Zonele limitate din cuprinsul unui antigen care reacționează specific cu efectorii poartă numele de *epitopi* sau determinanți antigenici. Pentru fiecare epitop organismul răspunde printr-un anticorp. Epitopii reprezintă o secvență de 4-8 reziduuri aminoacidice sau monozaharidice într-o moleculă polipeptidică, respectiv polizaharidică. Prin această prismă, haptena este similară unui epitop: o haptenă este un epitop artificial introdus într-o moleculă, în timp ce un epitop poate fi considerat o haptenă naturală în constituția unei molecule complexe.

Imunogenii și antigenii naturali (cu care organismul vine în contact) sunt *multivalenți,* adică conțin în molecula lor multipli epitopi (de obicei sute) fiecare în parte determinând un tip specific

Scanned with OKEN Scanner

de anticorpi. *Valența* unui antigen (sau imunogen) reprezintă suma epitopilor.

În privința valenței (numărului de epitopi) trebuie făcută o remarcă: prin organizarea secundară sau terțiară a unei molecule (organizarea în spațiu a unui lanț polipeptidic spre exemplu) nu toți epitopii se află situați la suprafața moleculei, unii fiind situați în interiorul moleculei (prin răsucirea în spațiu a lanțului polipeptidic). Numai epitopii expuși la suprafață vor fi "văzuți și recunoscuți" de celulele imunocompetente și deci numai față de aceștia se vor produce efectori (anticorpi specifici).

Din acest motiv orice schimbare spațială indusă asupra unei molecule, sau adăugarea de noi epitopi (haptene) va modifica antigenitatea și implicit valența. Același fenomen apare și consecutiv hidrolizei.

Organizare lineară și conformațională

Epitopii în molecula unui antigen pot fi *lineari* sau *secvențiali*, adică epitopii vecini spațiali sunt vecini și în configurația moleculei.

Epitopii *conformaționali* sunt epitopii vecini spațial, dar la distanță în lungimea (configurația) moleculei; ei au devenit vecini prin plierea sau încolăcirea în spațiu a unei molecule lineare.

Privind toate aceste caracteristici se poate afirma că numărul imunogenelor naturale este *practic infinit*, și acest lucru a putut fi demonstrat datorită perfecționării metodelor de imunizare și a folosirii imunogenilor artificiali (polipeptide sintetice).

Experimentele de imunizare cât și observații clinice au relevat faptul că există *imunogeni puternici*, care induc spre exemplu producerea unui mare număr de anticorpi (titru ridicat) și *imunogeni slabi*, care induc producerea de cantități mici de anticorpi (titru scăzut) sau chiar necesită imunizări repetate. Trebuie semnalat însă că intensitatea unui răspuns față de un imunogen este în raport și cu proprietățile funcționale și intrinseci ale sistemului imun ale unui individ și care sunt genetic determinate. Astfel la același imunogen un individ răspunde

Scanned with OKEN Scanner

puternic, altul mai slab.

În raport cu poziția unui antigen în organism putem avea:

- antigeni solubili sau nefigurați, care circulă în umorile organismului (molecule cum ar fi proteine plasmatice, enzime, hormoni)

- antigeni celulari sau figurați (celule, bacterii, paraziți).

Această distincție este arbitrară însă până la un punct; caracterul antigen al unui element figurat este de fapt rezultatul asocierii unor antigeni potențial solubili (molecule) inserate în sau pe membrană; ei pot deveni solubili dacă sunt eliberați în umori prin difuziune sau distrucție celulară.

Condițiile imunogenității

Conform concepțiilor clasice (mai vechi) condițiile imunogenității se datorau în mod obligatoriu existenței a 4 parametri:

caracterul străin față de organism (non-self)
pătrundere parenterală
greutate moleculară ridicată
natura proteică.

Rezultatele cercetărilor ulterioare au adus o serie de corective acestor imperative.

a) ***Caracterul străin***: în condiții fiziologice sistemul imun își recunoaște și tolerează propriile componente, fără a reacționa prin producere de efectori imuni. Se știe azi însă că fiecare individ posedă celule autoreactive și autoanticorpi (vezi cap. autoimunitate) fără ca acestea să aibă repercursiuni nedorite.

Față de acest caracter se poate vorbi despre:

- **antigeni autologi** (proprii) care în condiții fiziologice nu induc răspuns imun (autografa sau grefa autologă este tolerată)

- **antigeni singenici** sunt antigenii care apar la gemenii homozigoți sau la animalele de laborator "linii imbred". Grefa singenică sau izografa este tolerată.

- **antigenii homologi sau aloantigenii** sunt antigenii prezenți în cadrul aceleiași specii dar care diferă de la individ la individ sau între grupe de indivizi. Exemplu antigenii grupelor sanguine,

Scanned with OKEN Scanner

HLA. Alografa este greu tolerată.

- **antigenii heterologi sau xenoantigenii** sunt antigeni care diferă între specii. Cu cât speciile sunt mai îndepărtate filogenetic antigenitatea este mai mare. Xenografa nu este tolerată.

- o categorie aparte o formează **antigenii heterogenetici** sau **heterofili.** Ei reprezintă antigeni comuni mai multor specii. Cel mai cunoscut este antigenul Forssmann prezent pe hematiile de cal, câine și oaie; el nu există la om, deci serul uman conține anticorpi heterofili Forssmann.

- **antigenii sechestrați** sunt molecule proprii, care însă prin situația lor din punct de vedere morfologic, nu au venit în contact cu sistemul imun în cursul dezvoltării ontogenetice a unui individ (ex: fibrele cristaliniene, spermatozoizii). Pătrunderea ulterioară în organism a acestor antigeni și contactul lor cu sistemul imun, va declanșa un răspuns specific (ex: traumatismul cristalinului la un ochi va duce la lezarea prin anticorpi și a cristalinului de la celălalt ochi - oftalmia simpatică).

b) ***Introducerea parenterală.*** Această cale de pătrundere produce o imunizare optimă; dar se cunosc în prezent imunizări pe cale digestivă (ex: vaccinarea antipoliomielitică), pe cale respiratorie (imunizare față de polen și apariția stărilor alergice), imunizare percutană (producerea dermatitei de contact).

c) ***Greutatea moleculară.*** În general imunogenii puternici au greutăți moleculare între 10000-20000 daltoni. Sub limita de 5000 daltoni o substanță devine imunogenă numai legată de altă substanță după modelul haptenei. Pe lângă greutatea moleculară antigenitatea este influențată și de încărcarea electrică a moleculei și de dimensiunile moleculei. În general numărul epitopilor crește proporțional cu dimensiunea (mai mulți epitopi sunt expuși la suprafața organizării spațiale a moleculei). Pe de altă parte molecule foarte mari, agregate sau particule sunt fagocitate înainte de a lua contact cu sistemul imun.

d) ***Natura proteică.*** Primele substanțe recunoscute ca imunogene au fost proteinele, și de fapt ele sunt puternic imunogene datorită conținutului în foarte diverși aminoacizi. Diversitatea aminoacizilor conferă moleculei proteice și o diversitate de epitopi; răspunsul imun total va fi reprezentat de

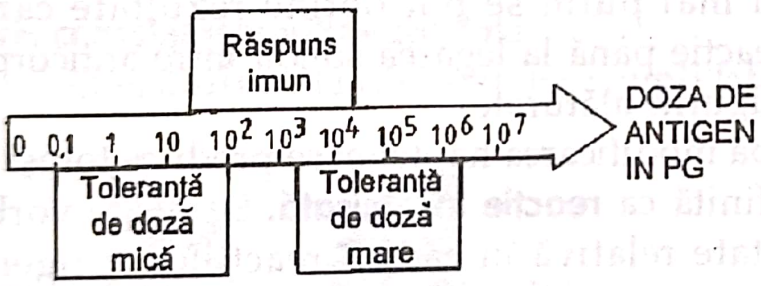
Scanned with OKEN Scanner

suma anticorpilor față de fiecare epitop în parte. Pe lângă proteine însă s-au dovedit imunogene și alte substanțe.

Polizaharidele în general sunt imunogene incomplete sau haptene, deoarece nu prezintă suficientă diversitate chimică. În plus sunt rapid catabolizate după administrare, înainte de a avea un contact suficient cu sistemul imun. Există totuși și forme imunogene cum ar fi *polizaharidele din structura capsulei pneumococilor* și *lipopolizaharidele* din membrana bacteriilor gram negative, cum ar fi endotoxinele. Este interesant că acești imunogeni determină producerea de anticorpi care persistă timp îndelungat în organism.

Lipidele pure nu sunt imunogene complete dar pot acționa ca haptene.

Glicoproteinele sunt imunogene, fapt ilustrat de prezența lor ca antigene de grup sanghin (A.B.O. sau Rh); răspunsul prin anticorpi este contra epitopilor glucidici.



REZULTATE ALE EXPERIENȚELOR LUI MICHISON PRIN ADMINISTRARE DE SERUM ALBUMINA BOVINA LA SOARECI

Figura 4 - **Experiența Mitchison**

Polipeptidele pot fi imunogene mai slabe, cum ar fi insulina, hormonul de creștere.

Acizii nucleici sunt considerați ca neimunogeni în stare nativă; dacă însă sunt sub formă de lanț simplu devin imunogeni. De altfel în lupusul eritematos (boală autoimună) apar autoanticorpi antiADN.

În răspunsul imun față de un imunogen un loc important îl joacă doza administrată. O doză prea mică, sau dimpotrivă prea mare nu generează răspuns imun; o nouă administrare a aceluiași imunogen în doză potrivită nu va fi urmată de răspuns imun deoarece doza mică sau prea mare a indus o stare **de toleranță** (experiența Mitchison) (figura 4).

Scanned with OKEN Scanner

Specificitatea antigenică

Specificitatea antigenică a putut fi studiată în urma lucrărilor lui Landsteiner care a deschis calea utilizării antigenelor artificiale (sintetice). În mare este vorba despre suporturi proteice pe care se grefează o haptenă (care poate fi ușor schimbată sau modificată ca structură).

Imunizarea unui animal cu un astfel de imunogen este urmată de producerea a 3 tipuri de anticorpi:

- anticorpi antiproteina suport (carrier)
- anticorpi antihaptenă
- anticorpi anti locul de implantare a haptenei (nu reacționează nici cu haptena nici cu suportul proteic).

Prin saturarea anticorpilor antiproteină (prin administrarea ulterioară numai a proteinei) se pot cerceta anticorpii antihaptenă și modul lor de reacție față de haptenă. Modificând structura haptenei mai mult sau mai puțin se pot obține rezultate care variază de la lipsa de reacție până la legarea solidă între anticorpi și haptenă (exemplu în figurile alăturate).

În cazul în care după modificarea haptenei se produce totuși o reacție, aceasta este definită ca **reacție încrucișată.** Se poate vorbi deci despre o specificitate relativă în cadrul reacțiilor antigen-anticorp (figura 5).

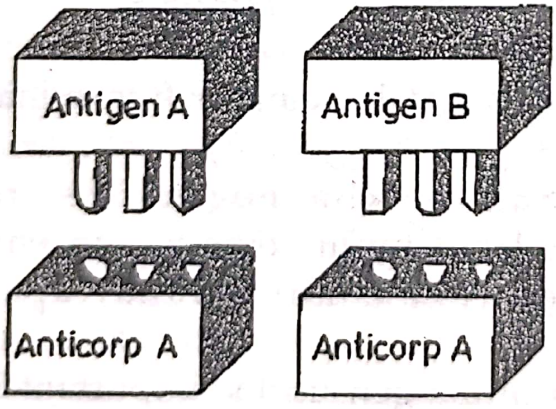


Figura 5 - **Reprezentarea schematică a reacției încrucișate**

Cunoașterea acestui fenomen are importanță deosebită în imunopatologie; organismul poate reacționa față de antigeni non identici și cu similitudini (Ex: streptococul hemolitic prezintă antigenitate similară cu unele substanțe din structura endocardului și miocardului. O infecție streptococică induce formarea de

Scanned with OKEN Scanner

anticorpi care prin reacție încrucișată vor reacționa și cu proprii antigeni cardiaci determinând apariția unei cardite, cardita reumatismală poststreptococică).

Reacția încrucișată se poate explica prin:

- antigenele similare posedă cel puțin doi epitopi identici
- antigenele similare posedă cel puțin doi determinanți apropiați ca structuri spațiale.

Forțele care intervin în reacția antigen-anticorp

Complexele antigen-anticorp nu sunt legate ferm, ele pot fi disociate; aceasta datorită faptului că **nu se formează legături covalente.** Forțele care mențin complexele pot fi:

- Forțe electrostatice (coulombiene) se realizează prin încărcarea electrică diferită între Ag și Ac (figura 6).
- Forțe Van der Waals care permit stabilizarea complexelor **prin complementaritate spațială**
- Legături de H care stabilesc punți labile intermoleculare

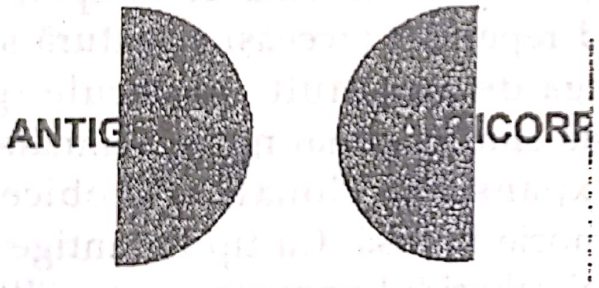


Figura 6 - **Schema forțelor electrostatice în reacția antigen-anticorp**

- Legături hidrofobe, consecutiv eliminării unei molecule de apă.

Menținerea complexelor se datorește în principal primelor două tipuri de forțe care acționează simultan.

Consecința acțiunii acestor forțe determină:

- ***Afinitatea*** care reprezintă forța de atracție între un epitop și anticorpul respectiv. Complexele cu afinitate mică se disociază mai ușor.
- ***Aviditatea*** care reprezintă forța de atracție între totalitatea epitopilor unui antigen și întreaga populație de anticorpi

Scanned with OKEN Scanner

corespunzători fiecărui epitop. Aviditatea este influențată de afinitatea individuală a fiecărui anticorp, de valența antigenului și valența anticorpilor. Ea deci nu reprezintă media afinităților.

Relația între structura antigenului și natura răspunsului imun

Antigene timoindependente: sunt molecule imunogene capabile de a induce formarea de anticorpi prin stimularea directă și nemijlocită a limfocitelor B, fără intervenția limfocitelor T. Au putut fi deosebite două tipuri de astfel de antigene:

a) Tipul I este format din molecule mitogene care realizează un răspuns umoral (prin anticorpi), policlonal (ex: lipopolizaharide, polivinilpirolidon).

b) Tipul II este reprezentat de antigeni lineari cu epitopi repetitivi, care de regulă persistă timp mai îndelungat în organism, fără a fi degradați. Acești antigeni de obicei persistă în sinusul subcapsular al limfoganglionilor sau în zona perifoliculară a corpusculilor Malpighi din splină, fiind recunoscută de receptorii Ig ai limfocitelor B. Epitopii fiind repetitivi (aceeași structură și configurație spațială) se vor lega de mai multe molecule Ig receptori; astfel limfocitul B capătă simultan mai multe semnale, suficiente pentru activare și expansiune clonală. De obicei răspunsul este prin IgM, cu memorie redusă. Ca tip de antigen linear cu epitopi repetitivi este polizaharidul pneumococului SIII; de asemenea polimeri sintetici ai D-aminoacizilor, dextrani.

Antigen timodependent. Marea majoritate a antigenilor naturali pentru a induce răspuns umoral necesită recunoașterea lor de către limfocitele T care apoi prin fenomenul de cooperare intercelulară cu limfocitele B (prin intermediul producerii de limfokine) le vor activa în vederea producerii de anticorpi (vezi dinamica răspunsului imun). Exemple de antigene timodependente sunt: proteine serice xenogenice, hematii xenogenice, polipeptide sintetice ale L-aminoacizilor etc.

În acest proces, epitopii fiind diferiți (nerepetitivi), limfocitul B va recunoaște *un singur epitop* (semnal insuficient pentru

Scanned with OKEN Scanner

activare). Limfocitul T va recunoaște alți epitopi, se va activa și prin sinteza de interleukine va "oferi" celelalte semnale necesare activării limfocitului B, care va răspunde prin anticorpi specifici fața de epitopul pe care l-a recunoscut (figura 7).

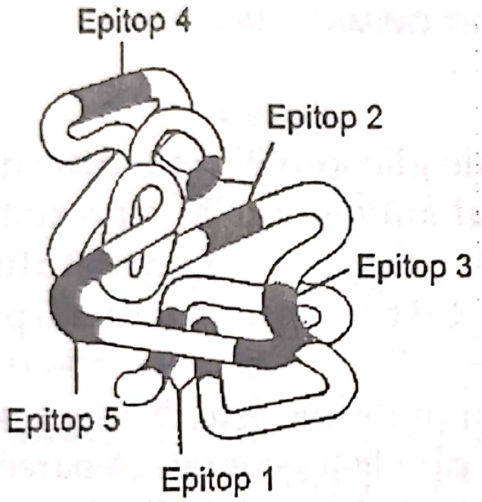


Figura 7 - **Reprezentarea schematică a antigenului conformațional**

Scanned with OKEN Scanner

IMUNOGLOBULINELE

Imunoglobulinele (Ig) sunt molecule glicoproteice produse de sistemul imun ca urmare a unui stimul antigenic. Ele reprezintă efectorii imunității umorale. Fiind consecința contactului organismului cu antigenii, inițial au fost denumite anticorpi, termen utilizat și în prezent.

Proprietatea fundamentală a acestor molecule este că recunosc și se leagă în mod specific de antigenul care le-a generat. Deoarece antigenii sunt de o diversitate foarte mare și imunoglobulinele sunt foarte diverse.

Imunoglobulinele, spre deosebire de alte substanțe proteice au o polaritate funcțională și structurală, cu alte cuvinte cei doi poli ai moleculei au funcții și structuri diferite:

- un *pol variabil,* NH2 terminal este adaptat funcției de recunoaștere a antigenului care a determinat sinteza lor;
- *un pol constant* COOH terminal, dotat cu funcții biologice diferite ca: recunoașterea și activarea complementului, atașarea de celule care posedă receptori pentru acest pol etc.

În răspunsul imun anticorpii se fixează cu polul variabil pe antigenii care i-au generat iar prin celălalt pol antrenează și declanșează mecanisme menite să neutralizeze, să degradeze sau să favorizeze eliminarea lor. Prin această legare specifică de antigeni se formează complexe antigen-anticorp.

Structura generală a Ig. Cu toată diversitatea lor funcțională și chimică Ig au o structură de bază comună. Ig sunt alcătuite din patru lanțuri polipeptidice: -două lanțuri grele H (de la heavy) și două lanțuri ușoare L (de la light), unite între ele prin punți disulfidice -S-S-. Un lanț ușor are greutatea moleculară în jur de 25000 daltoni, iar un lanț greu o greutate moleculară în jur de 50000 daltoni. Rezultă că numărul de aminoacizi din lanțurile H

Scanned with OKEN Scanner

este aproximativ dublu față de numărul aminoacizilor din lanțurile L. Această structură schematică este valabilă pentru molecula de Ig monomer, deoarece unele Ig se găsesc sub formă de polimeri. Moleculele de Ig, fiind glicoproteine cu greutate moleculară mare se înscriu printre substanțele cu potențial antigenic (figura 8).

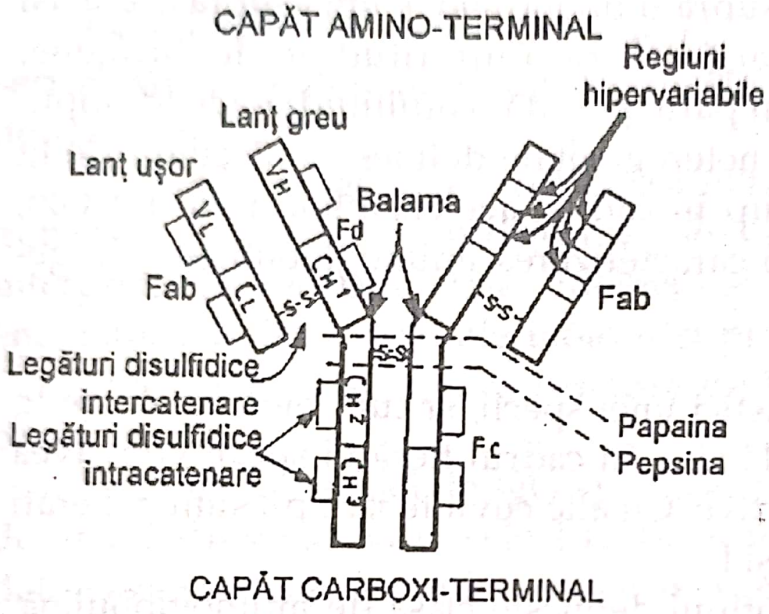


Figura 8 - **Structura generală a imunoglobulinelor**

Prin proprietățile lor antigenice moleculele de Ig se pot înscrie în trei nivele de heterogenitate:

a) **Izotipul** definește clasa și subclasa de Ig. Izotipul este identic la indivizii din cadrul aceleași specii, deci este definitoriu pentru o anumită specie. Izotipul este independent de activitatea de recunoaștere a anticorpilor, și administrat în cadrul aceleași specii de la un individ la altul nu va genera răspuns prin anticorpi antiIg. Dimpotrivă moleculele de Ig de la o specie administrată la altă specie va genera producerea de anticorp antiIg. (Ex. Ig umane administrate șoarecelui va genera producerea de către șoarece a anticorpi-tot Ig- antiIg umane).

b) **Alotipul** caracterizează un individ sau un grup de indivizi în cadrul aceleiași specii; ca și izotipul este independent de activitatea de recunoaștere a antigenelor.Alotipii se datoresc unor diferențe în structura chimică a izotipurilor din cadrul aceleiași specii. Ig de la un individ pot provoca producerea de anticorpi antiIg la un alt individ, din cadrul aceleiași specii.

Scanned with OKEN Scanner

c) **Idiotipii,** contrar primelor două nivele de heterogenitate, sunt cauzați de funcția de recunoaștere a antigenelor. Antigenitatea idiotipică a unei molecule de Ig se datorește polului de recunoaștere a antigenului.

Idiotipii variază de la un individ la altul în raport cu stimulul antigenic care a acționat asupra unui individ. Cum asupra aceluiași individ, în cursul vieții acționează o multitudine de antigene, rezultă că fiecare individ în parte posedă o multitudine de idiotipi.

Aceste trei nivele de heterogenitate definesc moleculele de Ig pentru fiecare specie, grup în cadrul aceleiași specii și indivizi, permițând în același timp caracterizarea imunoglobulinelor în general.

Izotipii fiind caracteristici unei specii, și cum moleculele de Ig sunt formate din lanțuri H și L, în cadrul fiecărei specii vom avea izotipi ai lanțurilor respective. Cu alte cuvinte izotipii sunt generați de structura lanțurilor H și L.

La specia umană izotipul definește clasa de imunoglobulină. Există *cinci tipuri de lanțuri grele* care variază ca secvență de aminoacizi, glicozilare și număr de aminoacizi, deci greutate moleculară. Aceste lanțuri sunt: γ, α, μ, δ, ε marcate cu litere grecești determinând clasele:IgG, IgA, IgM, IgD, IgE. În serul uman prin imunelectroforeză, se pot evidenția IgG, IgA și IgM; cantitățile prea mici de IgD și IgE sunt decelabile numai prin tehnici radioimunologice.

Există două izotipuri de *lanțuri ușoare k și λ.*

Într-o moleculă de Ig ambele lanțuri sunt sau k, sau λ, indiferent de lanțul H. Lanțurile ușoare au putut fi studiate datorită observației că într-o boală (limfomul plasmocitar sau mielomul multiplu) plasmocitele produc un singur tip de lanțuri ușoare k sau λ, care sunt eliminate prin urină. Astfel s-a putut demonstra că la specia umană cam 60% dintre Ig conțin lanțuri k și cam 40% lanțuri λ (95% k la șoareci, 100% l la cabaline).

Din punct de vedere al izotipului o moleculă de Ig umană poate avea ca structură $2\gamma2k$ sau $2\gamma2\lambda$, $2\alpha2k$ sau $2\alpha2\lambda$ etc.

Scanned with OKEN Scanner

Clasele de imunoglobuline

Imunoglobulina G (IgG)

Este majoritară; reprezintă cam 85% dintre imunoglobulinele serice. Are o greutate moleculară de 150000 daltoni și un coeficient de sedimentare 7S.

Molecula de IgG a fost cea care a permis descifrarea structurii generale a imunoglobulinelor, servind ca model pentru interpretările celorlalte clase. Edelman și Porter, utilizând digestii enzimatice și denaturări ale moleculei prin substanțe reducătoare au putut descifra structura primară de bază a IgG, și ulteror a celorlalte clase.

Tratarea moleculei de IgG cu substanțe reducătoare în mediu de uree individualizează cele 4 lanțuri constitutive. Fenomenul se datorează existenței punților -S-S- care leagă cele 4 lanțuri între ele; aceste punți se numesc **punți intercatenare.**

Digestia moleculei de IgG cu enzime proteolitice rupe molecula în fragmente. Papaina generează două fragmente a câte 45000 daltoni greutate moleculară care își mențin proprietatea de a se lega de antigen (fragment antigen binding) **Fab**, fără însă a-l aglutina, deoarece este un fragment monovalent. Al treilea fragment de 50000 G.m. reprezintă cam 1/3 din molecula de IgG, cristalizează spontan (fragmente cristalizabile) **Fc**, nu are proprietatea de a lega antigenul. Rezultă că molecula de IgG este formată din două fragmente Fab, care reprezintă polul cu proprietatea de a recunoaște antigenul și un fragment Fc, care reprezintă polul cu celelalte funcții biologice ale moleculei.

Digestia moleculei cu ajutorul pepsinei generează un fragment de 100000 G.m. Acest fragment recunoaște antigenul cu care aglutinează este deci bivalent și este notat cu **$F(ab')_2$.** Fragmentul Fc nu mai apare fiind hidrolizat de pepsină în fragmente mici. Deoarece fragmentele apar ca urmare a digestiei prin enzime proteolitice se poate concluziona că în molecula nativă ele sunt legate prin legături de tip peptidic.

Scanned with OKEN Scanner

În concluzie aceste experiențe au permis în 1962 lui Porter de a propune un model linear al moleculei de IgG sub forma literei Y, model confirmat ulterior prin microscopie electronică cristalografie, difracție cu raze X. Brațele Y sunt mobile, deoarece unghiul format de acestea poate varia între 80°-180°. Zonei care permite această mobilitate i s-a dat denumirea de **zonă balama.**

Stabilitatea moleculei este dată de legăturile -S-S- intercatenare între cele două lanțuri grele și între lanțurile ușoare și lanțurile grele (vezi schema). Tratarea prin reducere moderată va genera două semimolecule de IgG simetrice, în timp ce reducerea mai energică va genera cele 4 lanțuri constitutive ale moleculei.

Efectul diferit al celor două enzime proteolitice utilizate este urmarea locului unde ele produc proteoliza: papaina acționează deasupra punților disulfidice, în timp ce pepsina acționează sub acest nivel, astfel că Fab rămân legate între ele sub formă de $F(ab')_2$ bivalent.

Molecula de IgG conține cam 3% glucide legate covalent la nivelul Fc. Se consideră că au rol în transportul membranar al Ig și în stabilirea pe receptorii celulari ai Fcγ.

Subclasele IgG. Prin cercetarea antigenității izotipice cu seruri xenogene s-au evidențiat 4 subclase: IgG_1, IgG_2, IgG_3 și IgG_4 reprezentând cam 70,20,8 respectiv 2% din totalitatea IgG serice. Subclasele se caracterizează prin mici diferențe în secvența aminoacizilor în Fc, și în numărul de punți disulfidice.

Funcțiile efectoare ale IgG sunt în raport cu organizarea moleculară polarizată a moleculei. Funcția de recunoaștere a antigenului este dată de capătul NH_2 terminal al Fab. Fc este responsabil pentru:

- activarea complementului pe cale clasică, fixând fracțiunea C_1. Eficacitatea este $IgG_3 > IgG_1 > IgG_2$, IgG_4 fiind inactiv;

- fixarea pe receptorii Fcγ prezenți pe unele celule (Există receptori numai pentru IgG_1 și IgG_3). Această proprietate este importantă în procesul fagocitozei și în citotoxicitatea mediată prin anticorpi (vezi citotoxicitate).

- traversarea placentei, datorită prezenței receptorilor Fcγ pe sincițiotrofoblast. Această proprietate, unică pentru IgG face

Scanned with OKEN Scanner

posibil transferul de IgG materne, la embrion, și reprezintă singurele molecule IgG cu care se va naște fătul (Sinteza de IgG de către noul născut începe abia pe la vârsta de 3 luni).

Imunoglobulina M (IgM)

IgM sunt molecule pentamere (alcătuite din 5 monomeri) cu greutate moleculară de 900000 și constantă de sedimentare 19 S. Monomerii sunt legați prin punți disulfidice în regiunea balama. Un lanț suplimentar J (de joncțiune), cu 15000 G.m., sintetizat tot de plasmocite stabilizează pentamerul. Fiecare monomer are structura generală a IgG, fragmentul Fc având însă un domeniu în plus (vezi în continuare). Lanțul μ are cinci grupe glucidice, reprezentând 10% din greutatea moleculară. Având 10 Fab are o mare aviditate față de antigene, deși fiecare Fab în parte are afinitate mai mică intrinsecă, comparativ cu Fab al IgG. Microscopia electronică a permis evidențierea formei de stea a polimerului.

Funcții efectoare: sunt primele imunoglobuline care apar în cursul răspunsului imun primar, și în viața intrauterină. IgM sunt anticorpii capabili să recunoască antigenii timoindependenți și să reacționeze cu aceștia. Sunt cele mai puternice activatoare ale complementului pe cale clasică având 5Fc și cele mai eficace aglutinine. Apar ca și *anticorpi "naturali"*.

Ca monomer IgM sunt prezente pe suprafața limfocitelor B virgine, ca receptori (împreună cu IgD).

Imunoglobulina A (IgA)

IgA există atât sub formă de monomer(7S, 160000 daltoni) cât și ca di, tri sau tetrameri. Forma monomerică este prezentă în ser în proporție de 10%. În secreții (salivă, mucus, colostru, lacrimi), IgA este sub formă dimerică stabilizată printr-o piesă J și o piesă secretorie de aproximativ 70000 daltoni. În timp ce monomerii și piesa J sunt sintetizate de plasmocite, piesa S este sintetizată de celule epiteliale (epiteliu traheobronșic, digestiv, salivar, mamar,

Scanned with OKEN Scanner

lacrimal). Lanțurile grele α au cam 7% glucide. Monomerul are structura similară IgG.

Subclase: există două subclase IgA1 (cam 90%) și IgA_2 (cam 10%) în ser, dar în secreții, ca SIgA, cele două subclase sunt cam în proporții egale.

Funcții efectoare: în timp ce rolul IgA seric este relativ necunoscut, rolul IgA secretorii este bine lămurit și foarte important în apărarea locală a mucoaselor.

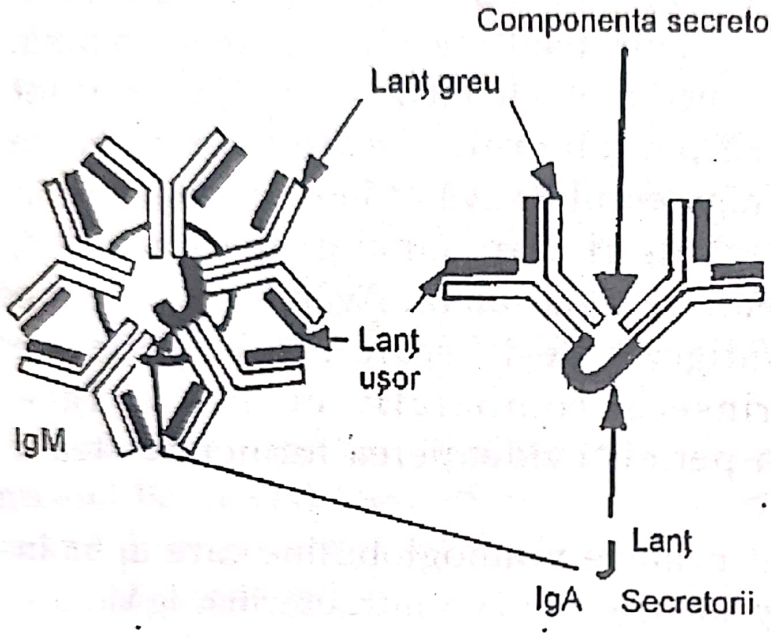


Figura 9 - **Imunoglobulina M și imunoglobulina A secretorie**

Plasmocitele sintetizante de IgA se află în cea mai mare parte în corionul mucoaselor, în cadrul țesutului limfoid atașat mucoaselor. Ele produc IgA ca urmare a antigenelor locale, sub formă dimerică. Celulele epiteliale sintetizează piesa secretorie, pe care o exprimă apoi pe membrana plasmatică (în special pe fețele laterale) unde va funcționa ca receptor pentru IgA dimer. După stabilirea legăturii cu IgA, complexul molecular IgA + piesa secretorie este endocitat de celula epitelială, care după o prealabilă micșorare a piesei secretorii îl elimină la suprafața polului apical al celulei ca SIgA (aproximativ 400000 daltoni). SIgA este imunoglobulina apărării antiinfecțioase locale, împiedicând în principal aderența germenilor pe suprafețele epiteliale. Piesa secretorie conferă rezistență față de acțiunile enzimatice proteolitice prezente la nivelul mucoaselor. IgA nu activează complementul pe cale clasică, dar ca și formă secretorie în special agregată poate activa complementul pe cale alternativă (figura 9)

Scanned with OKEN Scanner

Imunoglobulina D (IgD)

IgD se găsește în ser în cantități foarte mici (A fost descoperită la unii bolnavi cu mielom, ceea ce a permis analiza chimică). Lanțurile grele δ au cam 60000 daltoni și 5-10% glucide. Sunt legate printr-o singură punte disulfidică.

Funcții efectoare. Ca monomer seric, funcția IgD nu este cunoscută (unele activități ca anticorpi anti-insulină, anti-penicilină au fost descrise).

Ca și IgM monomeric formează receptorii limfocitelor B virgine. Se descrie și rolul lor în diferențierea limfocitelor B.

Imunoglobulina E (IgE)

IgE are lanțuri grele e de aproximativ 61000 daltoni (un domeniu suplimentar ca și IgM), de care sunt legate glucide în proporție de 10%. În condiții fiziologice se găsesc în cantități foarte reduse în ser.

Funcții efectoare: mastocitele și bazofilele posedă receptori Fcε, față de care IgE au mare afinitate. Fixate pe suprafața acestor celule, ele recunosc antigenul care le-au generat (este vorba despre alergeni) și vor determina degranularea acestor celule cu eliberare de substanțe biologic active producătoare de reacții alergice (vezi "Stări de hipersensibilitate") (figura 10).

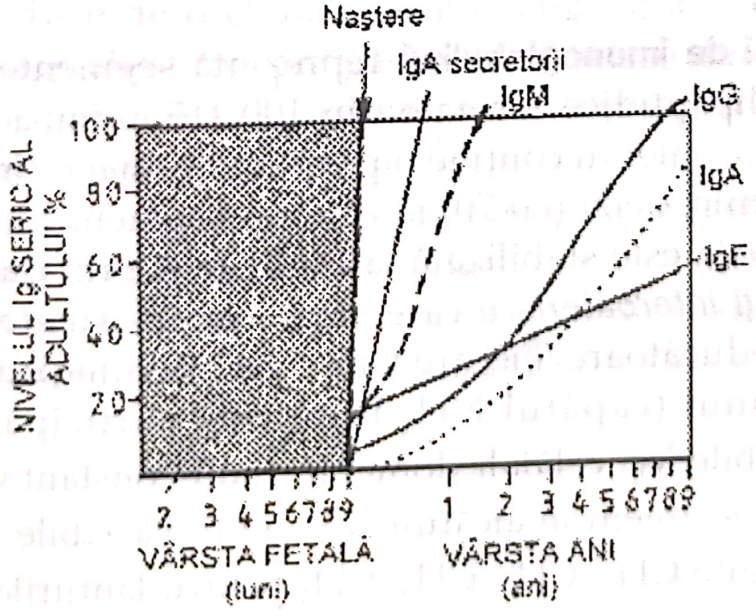


***Figura 10* - Reprezentarea diagramatică a apariției imunoglobulinelor**

Scanned with OKEN Scanner

Structura primară a imunoglobulinelor

Analiza aprofundată a imunoglobulinelor a evidențiat o structură primară cu totul particulară a acestor molecule.

Regiunile moleculei de Ig

Lanțurile polipeptidice grele și ușoare prezintă fiecare câte o **regiune variabilă** formată din 110 aminoacizi la polul NH_2 terminal, restul lanțurilor polipeptidice prezintă secvențe ale aminoacizilor care nu variază în cadrul unei clase reprezentând **regiunea constantă.**

În cadrul regiunii variabile secvența aminoacizilor variază de la o moleculă la alta în cadrul aceleiași clase. Aceste regiuni se notează cu VL la nivelul lanțurilor L (o moleculă având Vk sau $V\lambda$) și cu VH la nivelul lanțurilor H (care poate fi $V\gamma$, $V\alpha$ etc.). Deci la fiecare capăt terminal brațele Y conțin câte o regiune variabilă, cu o componentă VL și o componentă VH.

În cadrul regiunii variabile există **zone hipervariabile** - trei pentru fiecare lanț H și L în care variabilitatea aminoacizilor este maximă. Prin plierea spațială a acestor lanțuri, zonele hipervariabile se găsesc în apropiere, ele formând de fapt zona de recunoaștere a antigenilor care se numește **paratop.**

Domeniile moleculei de imunoglobulină reprezintă segmente în lungimea lanțurilor polipeptidice formate din 100-115 aminoacizi cu caracter repetitiv. Un domeniu conține o porțiune formată dintr-o buclă a lanțului de aminoacizi (60-70) și câte un segment linear de o parte și de alta. Bucla este stabilizată la capetele ei prin punți disulfidice numite *punți intercatenare* care sunt mai rezistente la acțiunea substanțelor reducătoare. Fiecare lanț ușor L conține două domenii dintre care unul (capătul NH_2 terminal) participă la formarea regiunii variabile V_L, celălalt domeniu fiind constant C_L. Fiecare lanț greu are un segment în alcătuirea regiunii variabile V_H și patru domenii constante CH_1, CH_2, CH_3, CH_4 pentru lanțurile γ, α, δ și cinci domenii constante pentru μ și ε.

Scanned with OKEN Scanner

Regiunea balama se află aproximativ la jumătatea lanțului greu. Este un segment scurt de aproximativ 15 aminoacizi sulfurați (resturi de cisteină) care permit formarea punților disulfidice între lanțurile grele. Această regiune nu este omologă cu celelalte domenii și permite flexibilitatea brațelor Y; de asemenea este zona hidrolizată de enzimele hidrolitice (papaină în special).

Alotipii imunoglobulinelor umane. Caracterele alotipice ale Ig umane sunt situate în domeniile constante ale lanțurilor grele și ușoare. Este vorba despre substituirea unui acid aminat cu un altul într-un domeniu, ceea ce modifică antigenitatea moleculei de Ig. Alotipi s-au evidențiat numai pe lanțurile γ, α și k. Anticorpii antialotipi deși iau naștere nu produc accidente (ex. posttransfuzionale) având afinitate mică pentru molecula Ig. Lanțurile γ au alotipi Gm, aproximativ 25, iar lanțurile α numai doi alotipi. Lanțurile K au 3 alotipi notați Km.

Idiotipii imunoglobulinelor umane reprezintă determinanții antigenici asociați paratopilor (zonelor de recunoaștere a antigenului). Determinanții idiotipici sunt determinați pe fragmentul Fab, în zona NH_2 terminală, adică în special în zona hipervariabilă a regiunii variabile. Idiotipul este unic, deoarece este definit de regiunea variabilă a lanțului L și H. Toate moleculele produse de o clonă plasmocitară au același idiotip. Molecule cu idiotip identic se pot găsi pe Ig de clase diferite.

Față de idiotipi ca și determinanți antigenici iau naștere molecule de antiidiotipi.

Față de un anumit antigen *un individ* răspunde prin idiotipi care-i sunt proprii.Acest idiotip este denumit *idiotip privat*. Rareori la unii antigeni idiotipii care apar sunt similari; ei sunt denumiți idiotipi publici (figurile 11, 12, 13).

Scanned with OKEN Scanner

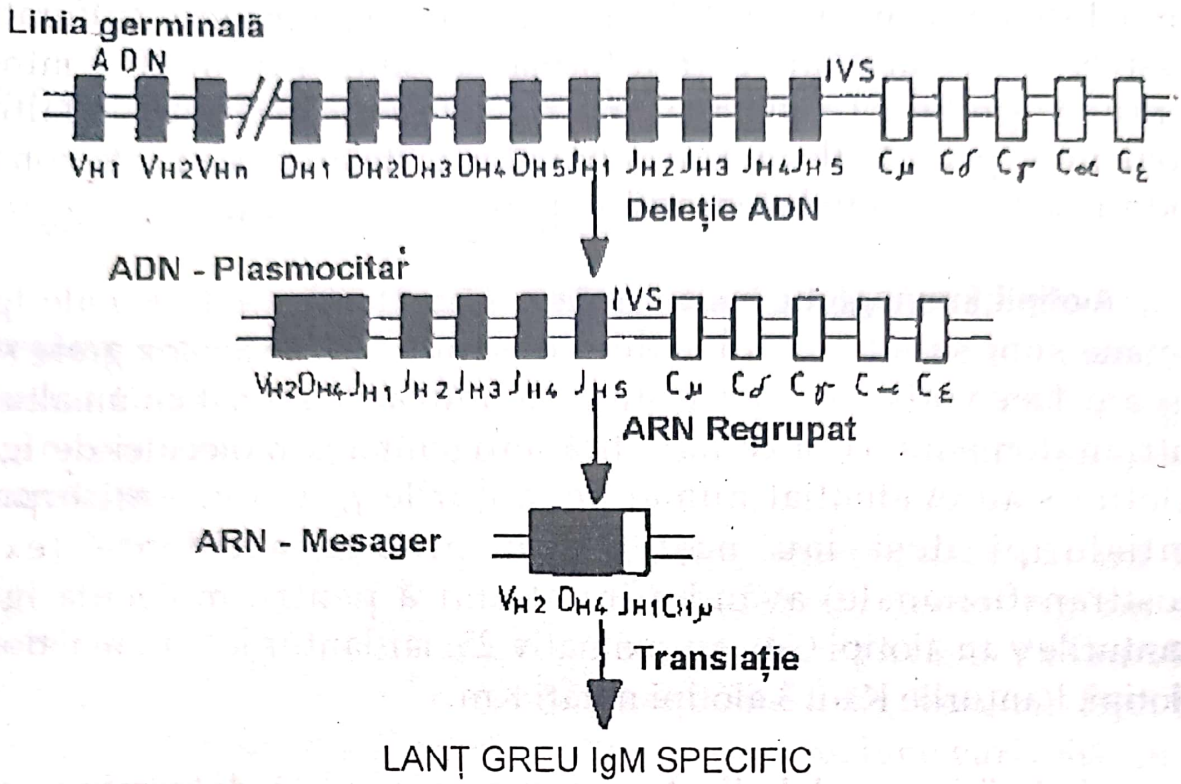


Figura 11 - **Reprezentarea schematică a sintezei de "lanț greu IgM"**

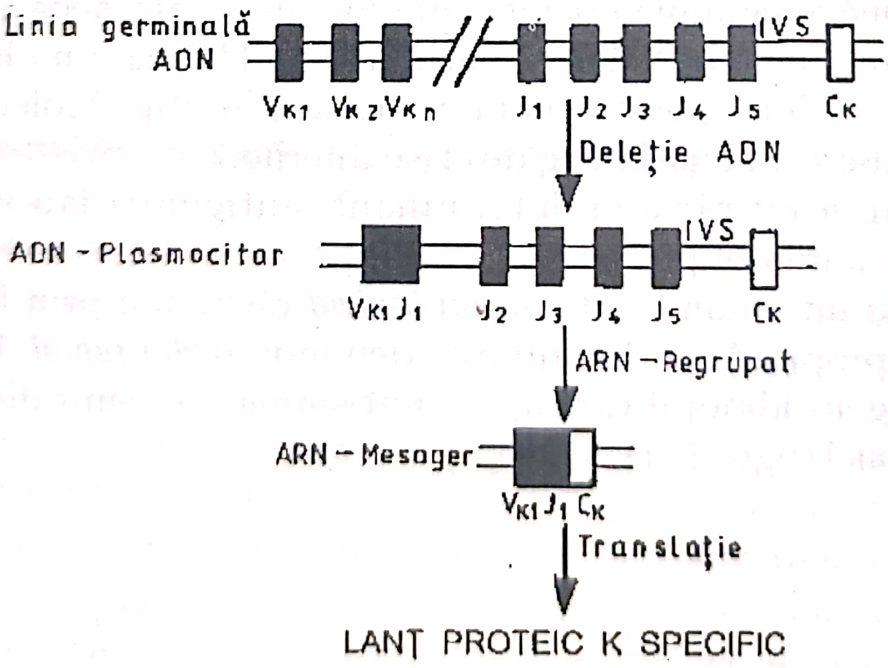


Figura 12 - **Reprezentarea schematică a sintezei de "lanț k ușor"**

Scanned with OKEN Scanner

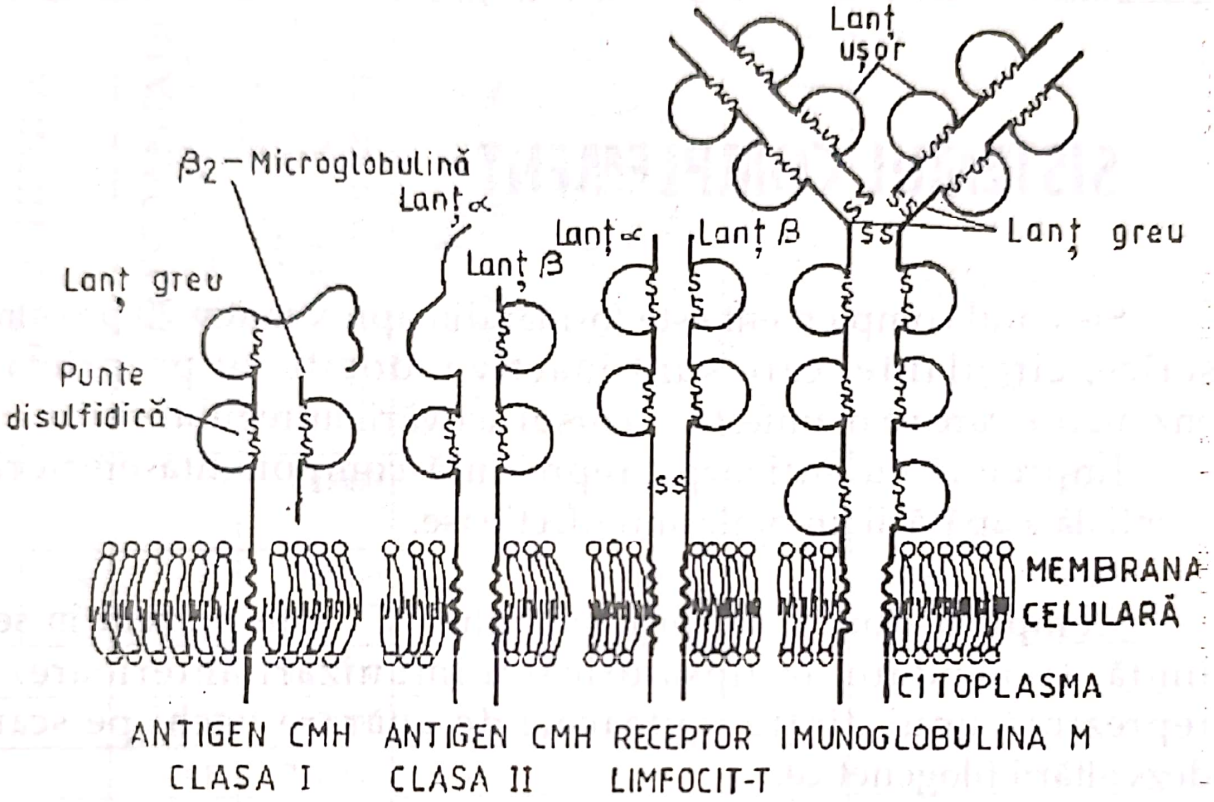


Figura 13 **- Superfamilia imunoglobulinelor ca molecule membranare**

Scanned with OKEN Scanner

SISTEMUL COMPLEMENT

Sistemul complement este format din aproximativ 20 proteine serice, circulante, care sunt inactive, dotate cu proprietăți enzimatice care se manifestă în cursul activării întregului sistem.

Împreună cu anticorpii reprezintă componenta efectorie esențială a apărării umorale antiinfecțioase.

Complementul, notat prin simbolul "C" este prezent în ser, limfă, transudate, în lipsa oricărei imunizări anterioare, și reprezintă unul dintre mijloacele de apărare vechi pe scara dezvoltării filogenetice.

Proprietatea fundamentală a "C" constă în capacitatea sa de a se activa **în cascadă unidirecțională** (asemănător funcționării sistemului coagulării).

În cursul activării rezultă o serie de factori cu activități biologice de mare importanță în procesele de apărare atât specifice cât și nespecifice (naturale).

Componentele complementului propriu zis (tabelul nr.1) fac parte din clasa globulinelor, existând ca preenzime; în cadrul sistemului se mai află factori activatori , inhibitori și reglatori, precum și substanțe simple, Ca, Mg.

Din punct de vedere funcțional în cadrul sistemului complement se pot diferenția:

- două **segmente de recunoaștere** care conduc la **activare** pe căi diferite;
- un **segment efector terminal** comun, rezultat al celor două căi de activare.

Scanned with OKEN Scanner

FRACȚIUNEA		CONSTANTA DE SEDIMENTARE	GREUTATEA MOLECULARĂ (în daltoni)	MIGRARE ELECTROFORETICĂ	CONCENTRAȚIA SERICĂ (mg/l)	TERMOLABILITATE (56°C-30 min)	LOCUL DE SINTEZĂ
C_1	C_1q	115	400000	γ-2	100-200	+	Ficat, macrofage, Enterocite
	C_1r	75	170000	β	30	+	Ficat, macrofage, Enterocite
	C_1s	45	80000	α-2	40-100	+	Ficat, mcrofage, Enterocite
C_2		65	115000	β-2	30	+	Ficat
C_3		9.55	185000	β-1-C	1200	0	Ficat, macrofage
C_4		105	230000	β-1-E	400	0	Enterocite
C_5		8.75	185000	β-1-F	80	+	Splină
C_6		65	125000	β-2	10-60	0	Ficat
C_7		65	140000	β-2	-	0	-
C_8		85	150000	γ-1	10	+	Ficat
C_9		45	79000	α-2	2-5	+	Ficat

Tabel 1 - **Fracțiunile complementului**

Activarea complementului

Se realizează pe:

a) **Calea clasică,** sub influența imunoglobulinelor agregate sau a complexelor Ag-Ac. Această cale presupune deci imunizarea prealabilă a organismului și sinteza consecutivă de Ig activatoare de complement.

b) **Calea alternativă**, sub influența directă a unor polizaharide bacteriene (și a altor substanțe), în lipsa imunoglobulinelor; în acest fel această cale reprezintă un mijloc "natural" sau nespecific de apărare antiinfecțioasă imediată.

Scanned with OKEN Scanner

Complexul terminal sau **complexul litic** sau **complexul de atac membranar** este un sistem multimolecular, rezultat al ambelor căi de activare, având ca proprietate perforarea membranelor biologice (bacteriene, celulare).

Proteinele complementului sunt notate în mod convențional C_1, C_2, C_3...C_9; complementul C_1 este format din 3 subunități C_{1q}, C_{1r}, C_{1s}; stabilizarea lor necesită prezența ionilor Ca; fragmentele de clivaj, rezultate din acțiunea litică sunt notate cu a sau b (ex. C_{3a}, C_{3b} sau C_{5a}, C_{5b}). Unele proteine din cadrul căii alternative sunt notate cu majuscule, ca de ex. P (properdina), factor B (proactivator al C_3), factor D (proactivator al C_3 convertazei) etc.

Complexele moleculare cu activitate enzimatică se notează cu o bară orizontală (ex. $\overline{C_{3b}B_b}$).

Sinteza proteinelor complementului

În prezent sunt bine stabilite numai sinteza și genetica unora dintre componente. Ansamblul factorilor de activare al căii alternative ca și factorii C_2, C_3 și C_4 sunt produse de către macrofage-monocite. Celulele epiteliale și fibroblaștii sintetizează complexul C_1 iar limfocitele produc probabil moleculele complexului litic. În general componentele complementului sunt rapid catabolizate (aprox. 24 ore).

Pentru C_2, C_4 și B se cunosc genele de structură, localizate în cadrul Complexului Major de Histocompatibilitate.

Activarea complementului

Activarea complementului este o reacție în cascadă; primul factor activat capătă proprietăți enzimatice proteolitice și acționează asupra următorului, îl fragmentează în 2 componente dintre care unul devine proteolitic specific față de cel de-al treilea component etc. În unele cazuri molecula activatoare, pentru a fi activă, trebuie să fie fixată pe o membrană biologică; acest fapt limitează activitatea sistemului exclusiv în mediu lichid.

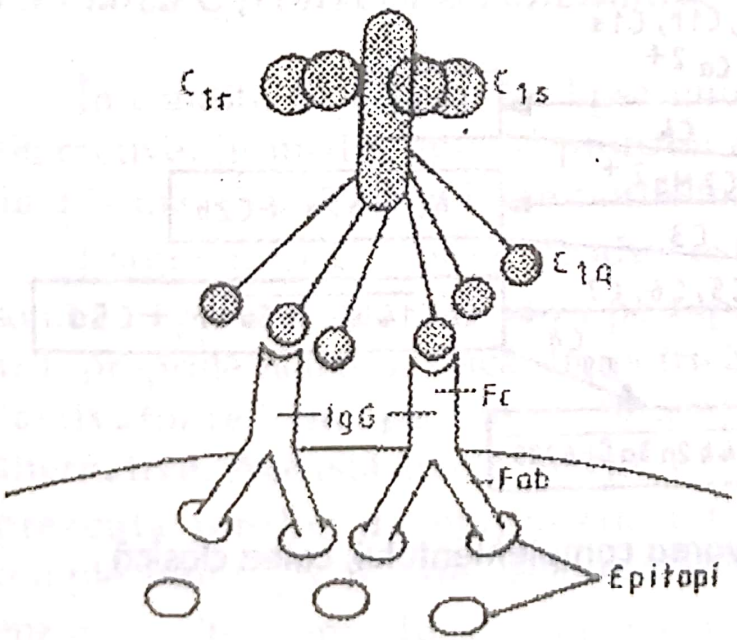
Scanned with OKEN Scanner

a) **CALEA CLASICĂ** începe prin interacțiunea între C_1 și Ig agregate sau complex Ag-Ac. Ig activatoare la om sunt IgG_1, IgG_2, IgG_3 și IgM. În mod excepțional activarea poate fi declanșată de unele virusuri, proteina C reactivă, ADN, protamina, heparina, lipopolizaharide. Calea clasică se desfășoară în două etape:

Etapa de recunoaștere

Factorul de recunoaștere este reprezentat de C_1 (format din 3 subunități C_{1q}, C_{1r}, C_{1s} menținuți în complex prin prezența ionilor de Ca).

C_{1q} este constituit din 6 lanțuri polipeptidice care la o extremitate au o porțiune globulară iar în cea de a doua extremitate se unesc într-un mănunchi comun, de care se atașează factorii C_{1r} și C_{1s}. Extremitățile globulare se fixează de Fc al IgG sau IgM. Activarea C_{1q} necesită ca *cel puțin două extremități* globulare ale celor 6 lanțuri polipeptidice *să recunoască cel puțin două Fc al IgG* (fig. 14).



ETAPA DE RECUNOAȘTERE

Interacțiunea complexului C1 cu două molecule de IgG fixate pe antigen

Figura 14 - **Etapa de recunoaștere**

C_{1q} devine astfel proteolitic și activează C_{1r}, care la rândul său

Scanned with OKEN Scanner

clivează C_{1s}, conferindu-i proprietăți enzimatice de esterază; apare astfel printr-o reacție în cascadă *C1s esteraza* ca rezultat al etapei de recunoaștere.

Etapa de formare a C_3/C_5 convertazei.

C_{1s} esteraza fragmentează prin hidroliză C_4 și C_2 generând fragmentele C_{4b} și C_{2a} de dimensiuni mai mici și fragmentele inactive C_{4a} și C_{2b}. $C_{4b}C_{2a}$ formează un complex cu proprietăți enzimatice numit *C_3 convertaza* căii clasice, care va acționa asupra C_3 și C_5. Formarea C_3 convertazei necesită prezența ionilor de Mg. Capacitatea enzimatică se află la nivelul C_2.

Sub acțiunea $C_{4b}C_{2a}$ asupra C_3 rezultă C_{3a} și C_{3b}; ultimul se depune în vecinătatea locului de clivare, C_{3a} devenind fracțiunea solubilă plasmatică. $C_{4b}C_{2a}$ are și activitate enzimatică asupra C_5 dacă acest factor este prezentat sub formă atașată de C_{3b}. Complexul $C_{4b}C_{2a}$ este un factor de acțiune scurtă fiind instabil și sub controlul unor factori de reglare (figura 15).

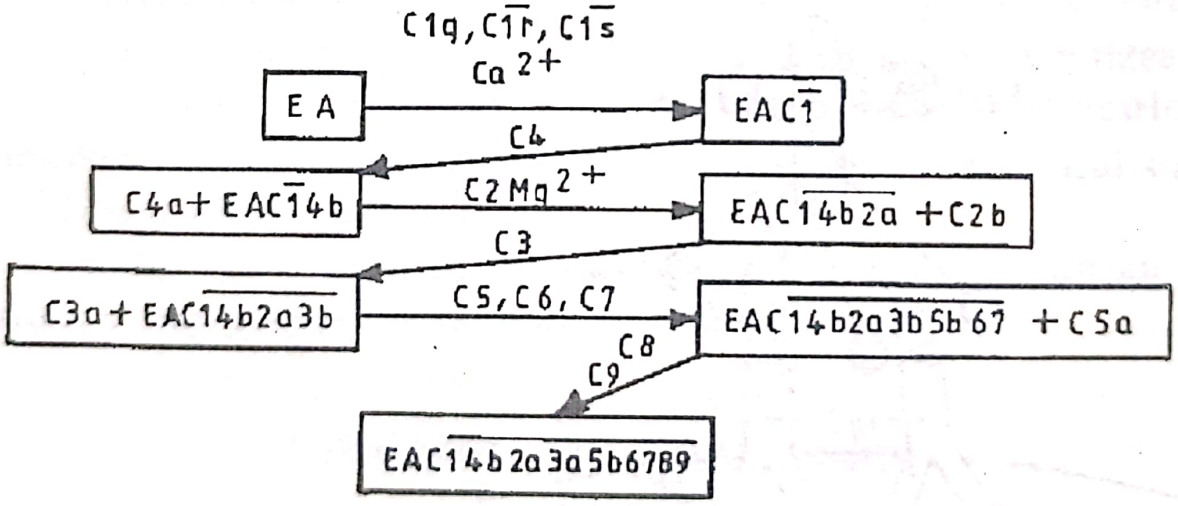


Figura 15 - Activarea complementului, calea clasică

Reglarea căii clasice de activare

C1inh este inhibitor al C_1 esterazei prin formarea de complexe inactive cu C_{1r} și C_{1s}. Absența congenitală a acestui factor

Scanned with OKEN Scanner

determină apariția unei boli, **edemul angioneurotic** (Boala se transmite genetic autosomal dominant, și se caracterizează prin edeme recidivante ale membrelor, trunchiului și feței. Atingerea căilor respiratorii determină dispnee gravă, iar a mucoasei digestive dureri abdominale intense. Simptomatologia poate fi declanșată de traumatism, inclusiv de extracții dentare sau tratamente endodontice).

C_{4bp} (C_4 binding-protein, proteina fixatoare de C_4) se fixează pe factorul C_4 împiedicând formarea C_3/C_5 convertazei.

C1qinh (inhibitor al C_{1q}) acționează prin inactivarea C_{1q} și astfel blochează declanșarea căii clasice.

Acești factori controlează intensitatea desfășurării căii clasice.

b) **CALEA ALTERNATIVĂ** este declanșată în mod direct, fără intervenția Ig de către variate substanțe ca endotoxine bacteriene, insulină, zimosamil, agregate de IgA, veninul de cobra. În cadrul acestei căi nu intervin C_1, C_2 și C_4, ci se formează, prin intermediul unor factori plasmatici, o buclă de amplificare având drept rezultat *C_3 convertaza* căii alternative.

Formarea C_3 convertazei alternative

În condiții fiziologice (în lipsa unui factor declanșator al căii alternative) în mediu apos și probabil a unor enzime proteolitice din plasmă, C_3 este clivat în proporție foarte mică în C_{3b} și C_{3a}.

Fragmentul C_{3b} astfel produs este inactivat dacă rămâne solubil în plasmă, sau se fixează pe suprafețe "neactivatoare" cum ar fi propriile hematii. Dacă dimpotrivă se fixează pe o suprafață "activatoare" începe bucla de amplificare a activării căii alternative. Această buclă începe prin legarea de către C_{3b}, în prezența ionilor de magneziu a factorului B și formarea complexului $C_{3b}B$. B astfel legat este scindat de către factorul D, o enzimă în Bb, formându-se complexul $C_{3b}B_b$ care este *C_3 convertaza* căii alternative. Aceasta are capacitatea de a scinda noi molecule de C_3, cu formarea de noi C_3 convertaze. În lipsa intervenției unor factori de reglare, această buclă se extinde până la epuizarea C_3

Scanned with OKEN Scanner

plasmatic (figura 16).

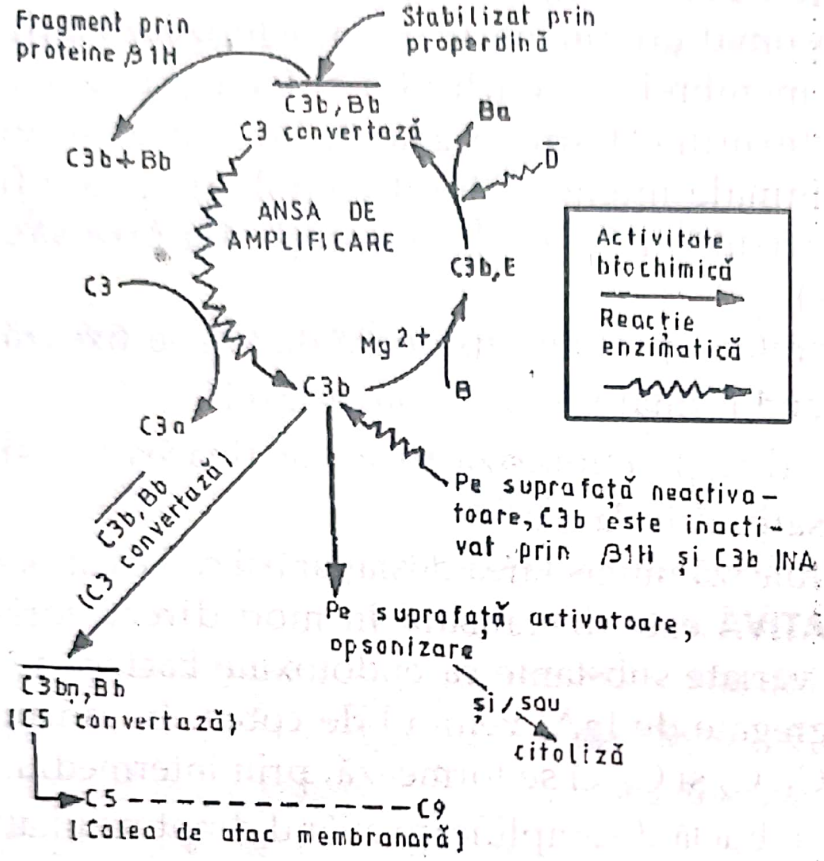


Figura 16

Reglarea căii alternative

Se realizează prin două proteine H și I. Molecula H este competitivă față de B rezultând astfel inactivarea C_3 convertazei. În plus molecula H legată de C_{3b} joacă rol de cofactor enzimatic care activează molecula I care la rândul ei scindează C_{3b} în iC_{3b}; aceasta din urmă nu mai are proprietatea de a lega factorul B și deci de a forma C_3 convertaza. În cazul unui deficit genetic de factor I are loc un consum total al C_3 plasmatic.

Rezultă că rolul suprafețelor "activatoare" este de a pune "la adăpost" C_{3b} împotriva factorilor H și I, permițând astfel declanșarea buclei de amplificare. În același sens, în cadrul căii alternative C_{3b} poate fi considerat ca factorul de recunoaștere al structurilor "activatoare". Similar căii clasice, C_3 convertaza alternativă fixată pe membrane are efecte de C_5 convertază, dacă C_5 este prezentat ca legat de o altă moleculă de C_{3b}.

Scanned with OKEN Scanner

Calea alternativă mai poate fi activată prin:

- veninul de cobra care conține C_{3b} de cobra care formează cu factorul B uman un compus de tip C_3 convertază insensibilă la proteinele H și I;
- factorul nefritic, care este un autoanticorp anti C_3 convertază; prin fixare se formează un compus stabil față de factorul H;
- factorul P (properdina) un factor plasmatic stabilizator fiziologic al C_3 convertazei.

c) **Activarea complexului litic**. Factorii C_5, C_6, C_7, C_8 și C_9 sunt molecule proteice plasmatice care circulă sub formă inactivă. Prin activarea oricăreia din cele două căi, sub acțiunea C_3/C_5 convertazei rezultă fragmentul C_{5b} care formează un complex stabil $C_{5b}C_6C_7$ care are o mare capacitate de fixare pe membrane. La acest complex stabil și fixat se leagă apoi C_8 și C_9 formând complexul litic extrem de stabil și care are proprietatea de a se insera în membrane biologice de natură fosfolipidică, formând adevărate cratere (vizibile în microscopia electronică, 10 nm diametru), care deschid comunicări între mediul intra și extracelular, rezultatul fiind liza celulară.

Mai recent a fost descrisă o proteină plasmatică S (vitronectina) cu efecte blocante asupra complexului litic și HRF (homologous restriction factor, factor omolog de restricție) prezent în hematiile umane, care are capacitatea de a lega C_8 și astfel împiedică formarea complexului litic.

Consecințele biologice ale activării complementului

Prin activarea în cascadă a sistemului complement rezultă, ca urmare a unor activități litice, numeroase molecule dintre care unele rămân atașate pe suprafețe, altele devin circulante. Ambele categorii au activități biologice importante în mecanismele de apărare ale organismului.

Scanned with OKEN Scanner

a) **Activități litice.** Se referă la liza unor celule ca hematii, plachete, leucocite, bacterii, unele virusuri, prin acțiunea complexului litic asupra membranelor lipoproteice. Celule tumorale sunt în schimb rezistente, ca și unele tipuri de bacterii. Liza este realizată de către complexul litic C_{5b6789} și este facilitată de unele substanțe cum ar fi lizozimul.

b) **Opsonizarea.** Prezența pe suprafața unor bacterii a fragmentelor C_{3b} reprezintă procesul de opsonizare (opsonizarea se poate realiza și prin fixarea Ig) care este favorizat de depunerea în prealabil a unor proteine de fază acută (ex. proteina C reactivă). O serie de celule prezintă receptori față de produșii rezultați din fracțiunea C_3 (CR_1= receptor pentru C_{3b}; CR_2=receptor pentru C_{3d}; CR_3 receptor pentru iC_{3b}).

Astfel celulele fagocitare (monocite-macrofage, granulocite neutrofile) posedă acești receptori, favorizându-se astfel fagocitoza. Se pare de asemenea că prezența acestor receptori pe limfocitele B determină unele acțiuni modulatoare prin complement ale răspunsului imun.

c) **Chemotaxia** și rolul complementului în cadrul procesului inflamator. Parte din produșii complementului favorizează și amplifică procesul inflamator.

Anafilatoxinele reprezentate de fracțiunile C_{3a} și C_{5a} au o structură în aminoacizi și greutate moleculară asemănătoare. Principalul efect al acestor fracțiuni este datorat proprietății lor de a activa *mastocitele şi bazofilele* care vor elibera produși vasoactivi (histamina, leucotriene, prostaglandine, factori chemotactici).

Acești factori favorizează migrarea leucocitelor și diapedeza lor în focarul inflamator.

Factorul C_{5a} este prin el un factor chemotactic de asemenea.

Factorul C_{4a} este de asemenea o anafilatoxină.

Factorul B_a este chemotactic pentru neutrofile.

Factorul B_b este activator al macrofagelor.

Scanned with OKEN Scanner

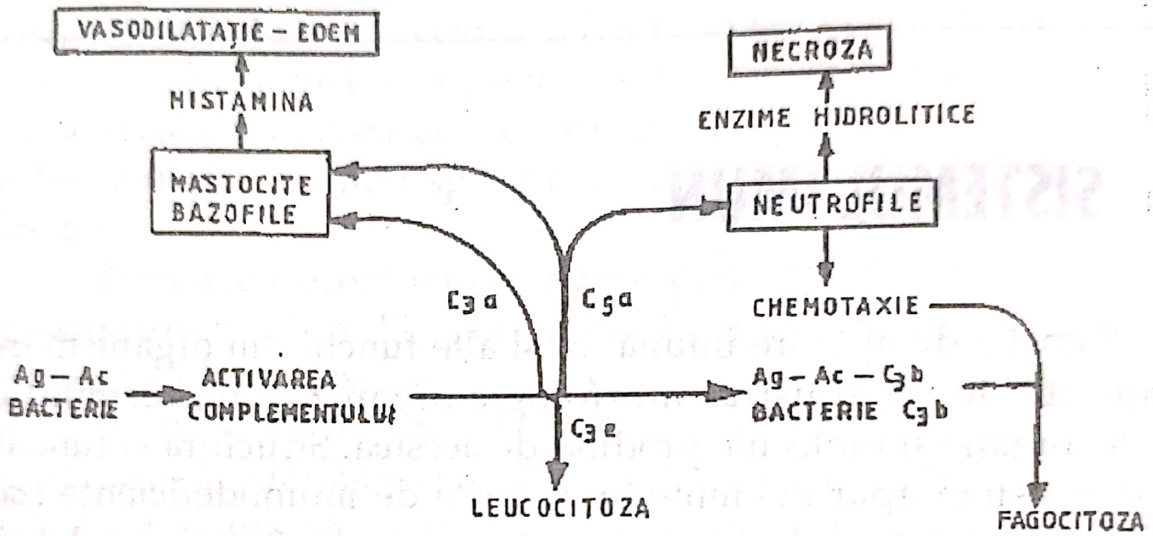


Figura 17 - **Rolul complementului în inflamație**

Capitolul V

SISTEMUL IMUN

Funcția de apărare imună, ca și alte funcții din organism este asigurată de un substrat morfologic organizat, reprezentat de celule, organe și molecule produse de acestea. Structura și funcțiile acestui sistem apar evidente în cazurile de imunodeficiențe (boli imune) în care lipsa unor organe ale sistemului imun sau deficite funcționale ale acestora determină boli care se caracterizează prin slaba sau lipsa de apărare față de agenți patogeni în special de natură infecțioasă. Aceleași efecte se manifestă și ca urmare a administrării unor substanțe (medicamente) cu potențial imuno depresiv.

Se consideră că un organism adult conține aproximativ 5×10^{13} celule; 5% din greutatea corporală, aproximativ $2,5 \times 10^{12}$ celule aparținând sistemului imun.

În cursul evoluției filogenetice interacțiunea dintre agenții externi dăunători și organismul gazdă, a cunoscut o continuă evoluție, determinând la vertebrate, organizarea unui sistem imun foarte complex.

În mod foarte schematic apariția unui răspuns imun presupune câteva momente:

- recunoașterea specifică a unui antigen pătruns în organism care se realizează prin existența pe celulele sistemului imun a unor receptori specifici. Enorma informație genetică înmagazinată în ADN al acestor celule, face posibilă sinteza și exprimarea de receptori care fac posibilă recunoașterea oricărui antigen;
- activarea celulei care a recunoscut antigenul; datorită semnalelor transmise de către receptori intracelular au loc numeroase fenomene biochimice care determină trecerea celulei din faza G_0 a ciclului celular în $G_1 \rightarrow S \rightarrow G_2$, ceea ce duce la transformarea blastică a celulei activate.

Scanned with OKEN Scanner

- expansiunea clonală; este consecința mitozelor succesive în urma activării. Rezultă o clonă celulară (o familie de celule) care va fi identică din punct de vedere geno și fenotipic cu celula care a fost activată (va avea aceiași receptori capabili să recunoască același antigen, în mod specific, care a determinat transformarea blastică);

- formarea efectorilor; parte din celulele rezultate din expansiunea clonală vor elabora efectori specifici (ex. imunoglobuline) care vor avea specificitate pentru antigenul care a fost recunoscut; acești efectori vor participa nemijlocit la neutralizarea, eliminarea sau degradarea antigenului.

Aceste etape conferă sistemului imun o proprietate fundamentală: aceea a **amplificării răspunsului** la noi contacte cu același antigen. Ex: o parte din limfocitele B se diferențiază în plasmocite, fiecare plasmocit producând cam 1.000 molecule de imunoglobulină pe secundă, timp de 2-3 zile cât trăiesc, adică 2 x 10^{10} molecule în total.

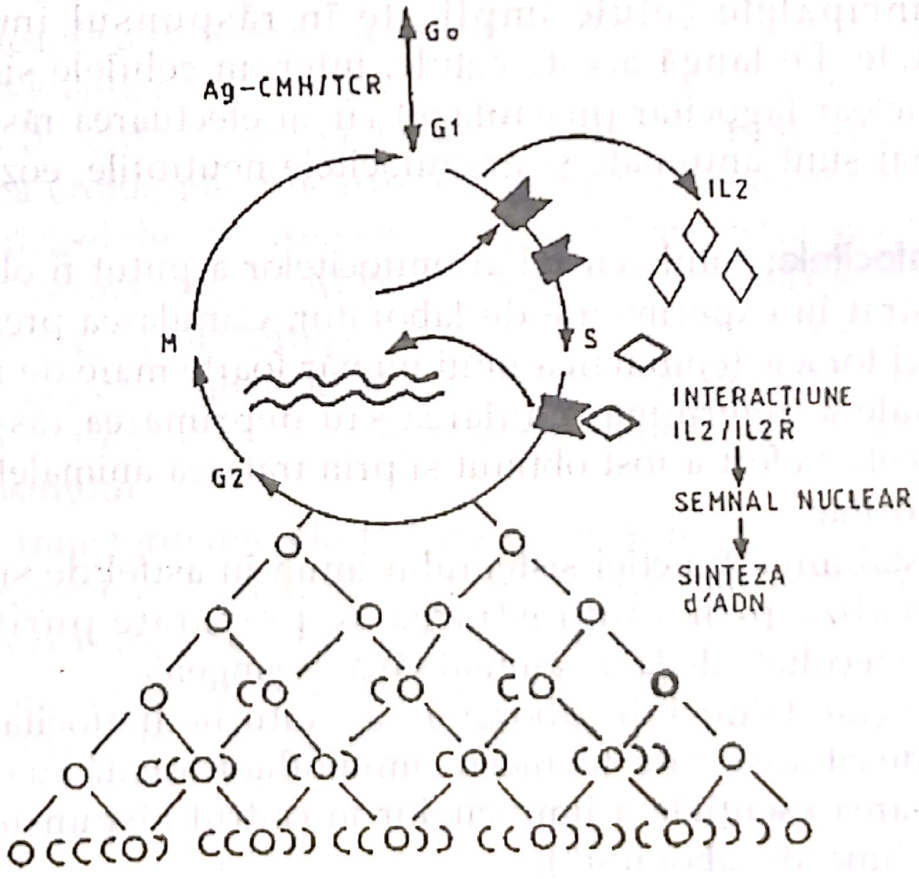


Figura 18 - **Reprezentarea schematică a transformării blastice și a expansiunii clonale**

Scanned with OKEN Scanner

Nu toate celulele rezultate dintr-o expansiune clonală devin, sau participă la elaborarea efectorilor. O parte reintră în stadiul de repaus, G_0, menținându-și capacitatea de recunoaștere a antigenului care a stimulat celula inițială; la o nouă întâlnire cu același antigen, mai multe celule îl vor recunoaște în mod specific, aceasta definind **memoria imunologică.**

Astfel imunitatea câștigată care are la bază funcționarea sistemului imun se caracterizează prin **specificitate, amplificare** și **memorie imunologică.**

În desfășurarea răspunsului imun intervin și o serie de **factori de reglare** intrinseci (în interiorul sistemului imun) și extrinseci (produși de alte sisteme) care determină un nivel corespunzător și eficient al răspunsului imun (figura 18).

Celulele sistemului imun

Principalele celule implicate în răspunsul imun sunt limfocitele. Pe lângă aceste celule, intervin celulele sistemului mononuclear fagocitar (macrofage) iar în efectuarea răspunsului imun mai sunt antrenate și granulocitele neutrofile, eozinofile și bazofile.

Limfocitele: rolul central al limfocitelor a putut fi observat și demonstrat în experimente de laborator. Canularea prelungită a canalului toracic (eliminarea unui număr foarte mare de limfocite) la animale a determinat anularea sau deprimarea răspunsului imun; același efect a fost obținut și prin tratarea animalelor cu ser antilimfocitar.

Restabilirea funcției sistemului imun în astfel de situații s-a putut realiza prin administrarea de preparate purificate de limfocite recoltate de la un animal sănătos singenic.

Ulterior, tehnici de laborator ca: culturile limfocitare mixte, tehnici de citotoxicitate, tehnici de imunofluorescență au evidențiat participarea esențială a limfocitelor în cadrul răspunsului imun (vezi "tehnici de laborator").

Morfologia limfocitelor. În sângele circulant, limfă și țesuturi limfocitele apar ca o populație celulară omogenă. Celule rotunde,

Scanned with OKEN Scanner

cu un diametru în jur de 8 μ, au un nucleu mare, hipercrom, rareori cu nucleol evident, și care ocupă cea mai mare parte din celulă. Citoplasma moderat bazofilă, omogenă, apare ca un inel subțire în jurul nucleului. Membrana plasmatică are structura obișnuită a membranei celulare. Într-o proporție mică pot apare limfocite de dimensiuni mijlocii (9-10 μ) sau limfocite mari (12-14 μ) pe seama unei cantități mai mari de citoplasmă, de obicei ceva mai bazofilă. Rareori în citoplasma limfocitelor pot apare 2-3 granulații azurofile.

Odată evidențiate și individualizate, multă vreme nu s-a cunoscut rolul limfocitelor, deși ele au fost observate ca acumulându-se în zonele cu proces inflamator. În plus ele au fost considerate ca celule diferențiate, reprezentând punctul terminal al unei linii celulare.

Mult mai târziu au fost evidențiate două caracteristici ale limfocitelor:

- capacitatea de transformare blastică ca urmare a activării lor;
- heterogenitatea ontogenetică, geno și fenotipică și funcțională a limfocitelor.

Transformarea blastică. Limfocitele plasate într-o cultură care conține *substanțe mitogene* (care produc mitoze ex: fitohemaglutinina, concanavalina A), celule alogenice, sau antigene naturale, au proprietatea de a se transforma blastic și de a prolifera. Fenomenul poate fi evidențiat microscopic prin creșterea volumului celulei, a cantității de citoplasmă și a numărului de organite celulare, dispunerea cromatinei nucleare sub formă de heterocromatină și apariția nucleolului; de asemenea se poate demonstra incorporarea precursorilor marcați de ADN (ex: timidina tritiată) ai ARN și a proteinelor, a căror sinteză începe să crească. Acest fenomen demonstrează că limfocitele mici nu reprezintă punctul terminal al maturării și diferențierii lor, fapt care le deosebește de alte celule ale organismului.

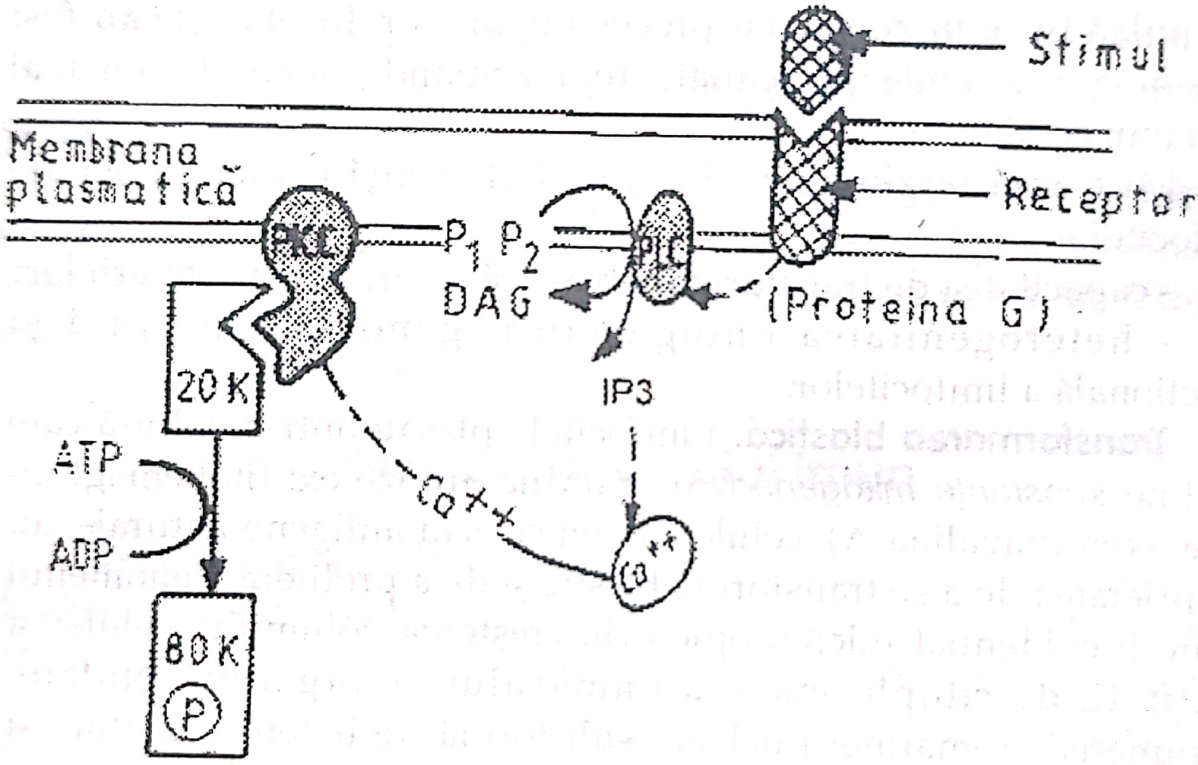
Deși transformarea blastică nu apare și nu evoluează identic la toate limfocitele, ea se realizează după o schemă similară.

- Declanșarea activării este rezultatul legării unui stimul (antigen, mitogen) de receptorii limfocitelor care recunosc acest stimul; complexul format este endocitat: acest fapt determină o

Scanned with OKEN Scanner

activare a ATP-azei, Na+K+ dependentă, membranară, care modifică permeabilitatea, permițând pătrunderea K^+ și ieșirea Na^+, ca și deschiderea canalelor de Ca^{++} care pătrunde în celulă legându-se în parte de calmodulină (figura 19).

- Se activează apoi metil-transferaza membranară care determină o fluidificare a membranei și activarea adenil-ciclazei și guanidil-ciclazei urmată de creșterea sintezei de AMP ciclic și GMP ciclic.



ACTIVAREA PROTEINKINAZEI C.

Figura 19

- Stimularea fosfolipazei A_2 determină eliberarea de acizi grași (acid arahidonic). Crește sinteza de fosfatidil inozitol care va fi apoi scindat în inozitol-trifosfat și diacilglicerol; acesta din urmă activează proteinkinaza G, moleculă indispensabilă procesului de activare celulară (figura 20).

Scanned with OKEN Scanner

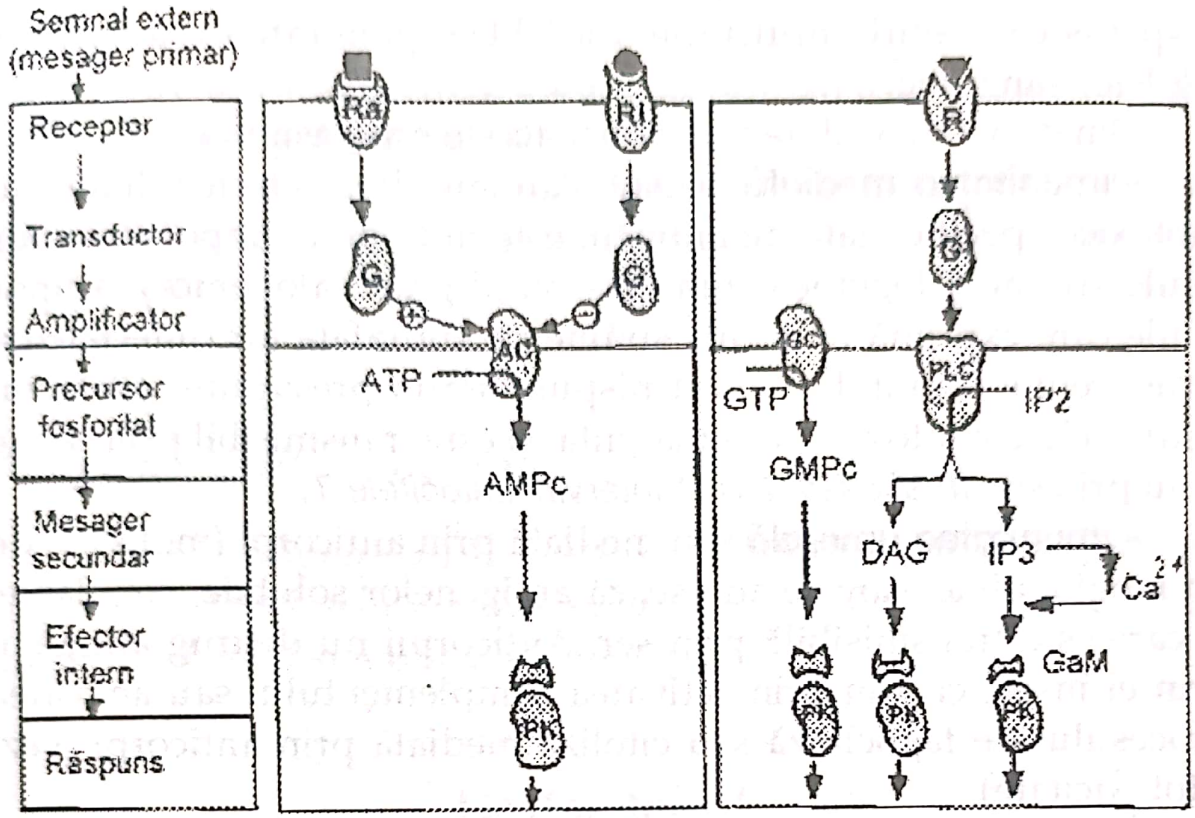


Figura 20 - **Schema etapelor biochimice în procesul activării**

Heterogenitatea limfocitelor

Odată izolate și purificate limfocitele s-au dovedit a fi o populație celulară heterogenă din multe puncte de vedere:

- densitate;
- durata de viață (viață scurtă, viață lungă);
- răspunsul față de mitogeni;
- mobilitate electroforetică;
- distribuția în organele limfoide secundare;
- funcționalitate în cadrul răspunsului imun.

În cadrul acestei populații heterogene se disting două clase importante de limfocite bine individualizate funcțional și ontogenetic:

- **Limfocitele T** - care ontogenetic se diferențiază *în timus;*
- **Limfocitele B** - care ontogenetic se diferențiază în "bursa lui Fabricius" la păsări și în *măduva osoasă* la mamifere.

Scanned with OKEN Scanner

Ambele clase au un precursor comun în măduva osoasă, desprins din celula multipotentă CFUS, generatoare a tuturor celulelor sanguine.

Din punct de vedere funcțional aceste clase asigură:

- **Imunitatea mediată celular**, care are drept efectori limfocite citotoxice specifice față de antigen, este îndreptată împotriva unor celule străine (alogenice cum este cazul grefei alogenice), a unor celule care exprimă molecule străine pe suprafața lor (infectate cu virus, celule tumorale). Acest răspuns imun presupune contactul dintre celula citotoxică și celula țintă, și este transmisibil prin celule și nu prin ser. *În această formă intervin limfocitele T.*

- **Imunitatea umorală** sau mediată prin anticorpi (molecule de imunoglobuline, care se adresează antigenelor solubile, circulante, și care este transmisibilă prin ser. Anticorpii nu distrug antigenii prin ei înșiși, ci prin prin activarea complementului sau activarea procesului de fagocitoză sau citoliză mediată prin anticorpi (vezi citotoxicitate).

În această formă de răspuns imun intervin limfocitele B, care prin activare se diferențiază în plasmocite sintetizante de anticorpi specifici.

După cum s-a arătat nu toți antigenii solubili pot fi recunoscuți direct de limfocitele B; în majoritatea cazurilor recunoașterea se face de către limfocitele T, care la rândul lor vor participa la activarea limfocitelor B (vezi dinamica răspunsului imun).

Se poate deci concluziona că rolul central în imunitatea câștigată, specifică o dețin limfocitele T.

Markerii și receptorii limfocitelor

Ca și alte celule, limfocitele exprimă pe suprafața lor (în structura membranei plasmatice) molecule cu proprietăți antigenice (de tip xenoantigene și aloantigene) și care le caracterizează. Unele dintre aceste molecule se găsesc și pe alte celule ale unui individ (ex. antigene de histocompatibilitate), altele particularizează limfocitele și deci pot fi utilizate pentru

Scanned with OKEN Scanner

identificarea lor sau chiar a subclaselor. Aceste molecule sunt generic numite **antigene de diferențiere.**

Prin imunizări cu celule, se obțin anticorpi împotriva diferitelor molecule (seruri polivalente). Cu ajutorul acestor seruri se pot apoi identifica diferite celule, și moleculele pe care le exprimă.

Antigene de diferențiere ale limfocitelor umane

Aceste antigene au putut fi evidențiate prin utilizarea de anticorpi monoclonali (vezi apendice Fehnic) și au fost marcați cu simbolul CD (Cluster of Differentiation).

Limfocitele T

CD_1 este un antigen prezent numai pe suprafața timocitelor corticale.

CD_2 se găsește pe suprafața timocitelor și a limfocitelor T periferice; este o proteină de 50 kDa. Această moleculă recunoaște pe suprafața hematiilor de oaie molecula LFA-3 (distinctă de antigenele eritrocitare) fiind responsabilă pentru formarea rozetelor simple "E" (rozete neimune).

CD_3 este un complex molecular prezent pe limfocitele T periferice și pe timocitele din medulară. Acesta reprezintă *transductorul* semnalului recepționat de către receptorul limfocitelor T care au recunoscut antigenul specific. Anticorpii monoclonali anti CD_3 au rol mitogen, dar în același timp blochează răspunsul proliferativ al limfocitelor T în prezența celulelor alogenice, cât și faza efectoare a limfocitelor T citotoxice.

CD_6 este un antigen prezent pe timocitele corticale, dar este tranzitoriu; nu este prezent pe limfocitele T periferice, mature.

CD_4 și CD_8 reprezintă antigenii care recunosc moleculele antigenice ale complexului Major de Histocompatibilitate (CMH) de clasa II, respectiv de clasă I, implicate în recunoașterea antigenului de către limfocitele T.

Scanned with OKEN Scanner

Limfocitele B

Pentru aceste limfocite au fost descrise:
CD_{19} - cu funcție incertă.
CD_{20} - reprezintă un canal ionic.
CD_{21} - este receptorul pentru virusul Epstein Barr.

Receptorii de suprafață

Sunt molecule membranare, care prezintă afinitate față de alte molecule cu care se leagă în mod specific (o moleculă legată este denumită ligand). În cele mai multe cazuri liganzii au efecte farmacologice asupra celulei care a fixat ligandul.

Limfocitele, în general, posedă multipli receptori, pentru diferiți liganzi, adesea anumiți receptori fiind utilizați și pentru identificarea și caracterizarea unei subclase limfocitare.

În mare parte receptorii limfocitelor "recunosc" molecule (liganzi) în cadrul desfășurării răspunsului imun, dar pot recunoaște, prin alți receptori, hormoni, mediatori, virusuri etc.

Receptorii de recunoaștere ai antigenelor

Receptorii limfocitelor T

Importanța limfocitelor T în cadrul răspunsului imun se datorește în cea mai mare parte capacității lor de a recunoaște antigenele și de a deosebi propriul (self) de străin (non self). Această funcție de recunoaștere se datorește prezenței receptorilor pentru antigene.

Receptorul $\alpha\beta$ este un dimer format din două lanțuri polipeptidice α și β, implantate în membrana plasmatică, legate printr-o punte disulfidică. Capătul aminoterminal situat în afara celulei reprezintă zona variabilă de recunoaștere a antigenelor, iar capătul carboxiterminal se găsește intracitoplasmatic. În decursul

Scanned with OKEN Scanner

ontogenezei limfocitelor T în timus datorită proceselor de rearanjament genetic, translocații, deleții și recombinări, regiunile variabile ale TCR diferă de la o clonă limfocitară la alta, făcând posibilă recunoașterea tuturor antigenelor cu care organismul poate veni în contact. TCR este situat în vecinătatea moleculei CD_3 și a moleculelor CD_4 sau CD_8. Regiunile variabile ale TCR exprimă idiotipi, analogi idiotipilor exprimați de către moleculele de Ig.

Receptorul γδ. Este tot un dimer format dintr-un lanț γ și un lanț δ, dar se găsesc pe limfocite TCD_3+CD_4-CD_8-. Aceste limfocite reprezintă numai cam 3-5% dintre limfocitele periferice și sunt localizate cu predilecție în mucoasa digestivă și în piele. Funcția lor este incertă. Unele studii au demonstrat că recunosc antigeni aparținând proteinelor de "stress".

Receptorii limfocitelor B

Sunt imunoglobuline de suprafață (Igs). În principal este vorba despre IgM monomer și IgD în cazul limfocitelor B virgine. Pe măsura activării acestor limfocite de către antigene printr-un mecanism de comutație genică apar receptori IgG, IgA sau IgE, care vor prezenta însă același idiotip cu receptorii inițiali.

Alți receptori

- Receptorii pentru fragmentul Fc al Ig se găsesc pe limfocitele B și o parte a limfocitelor T;
- Receptorii pentru fracțiuni ale complementului (C_{3b}, C_{4b}) se găsesc pe majoritatea limfocitelor B;
- Receptori pentru hormoni, mediatori, se găsesc pe limfocite (ex: pentru insulină, STH, histamină, prostaglandine, hormoni timici);
- Receptori pentru interleukine (citokine) se găsesc pe limfocitele T și B (se vor menționa în alte capitole).

Aceste molecule receptori nu sunt specifici pentru limfocite ele fiind prezente și pe alte elemente celulare (granulocite, macrofage, endotelii etc.).

Scanned with OKEN Scanner

Limfocitele K, NK, LAK

Sunt limfocite definite prin caracterul lor funcțional, liza celulelor țintă (de unde și denumirea K = killer - ucigaș - NK = natural killer - ucigaș natural - LAK = limphokine activated killers - ucigașe activate prin limfokine).

Diferența dintre ele se bazează pe modul diferit de recunoaștere a țintei.

Aceste celule nu conțin receptori specifici pentru antigene, deci nu au specificitate pentru un anumit antigen.

Limfocitele K au în comun faptul că posedă receptori de mare afinitate pentru Fcγ (fragmentul Fc al IgG) care permite adeziunea și recunoașterea țintei. Celulele K intervin în citotoxicitatea din cadrul imunității celulare mediate prin anticorpi. Astfel de activitate poate însă realiza orice celulă cu receptori Fc, cum ar fi celulele NK, macrofagele, granulocitele.

Limfocitele LAK sunt celule a căror capacitate citotoxică este indusă de citokine (Il_2, Il_4). Au oarecare activitate antitumorală.

Limfocitele NK - (vezi imunitatea naturală)

Toate aceste tipuri de limfocite citotoxice nu sunt supuse restricției alogenice, adică nu necesită compatibilitate legată de antigenele de histocompatibilitate (HLA la om), iar recunoașterea țintei nu presupune receptori specifici față de antigeni.

Celulele prezentatoare de antigeni (C.P.A.)

Recunoașterea specifică a unui antigen de către limfocitele T, impune ca acest antigen să fie prelucrat și prezentat de către o altă celulă - celula prezentatoare de antigen. Aceste celule au capacitatea de a degrada parțial antigenul în fragmente peptidice (octa-decapeptide), iar fragmentele degradate urmând a fi exprimate la suprafața celulei în "tandem" cu antigenul de histocompatibilitate de clasă II. Moleculele de clasă II trebuie să fie complemetare moleculelor de recunoaștere de pe limfocitele T (adică proprii) acesta reprezentând fenomenul de restricție

Scanned with OKEN Scanner

alogenică.

Principalele celule prezentatoare de antigen sunt: macrofagele, celulele dendritice și interdigitate din ganglionii limfatici, celulele Langerhans din epiderm și epiteliul mucoasei bucale.

O serie de alte celule, sub influența citokinelor exprimă antigene de histocompatibilitate de clasă II și deci devin C.P.A. cum ar fi: cheratinocitele, celule endoteliale, astrocite, limfocite B.

În situații patologice, practic, orice celulă nucleată poate căpăta proprietăți C.P.A.

Alte celule

În cursul desfășurării răspunsului imun, pot fi antrenate granulocitele (neutrofile, eozinofile, bazofile), ca și mastocitele.

Scanned with OKEN Scanner

ORGANIZAREA SISTEMULUI IMUN

Sistemul imun, ca și alte sisteme și aparate este organizat ca țesut limfatic și organe limfatice, legate între ele prin vase sanguine și/sau limfatice (vezi cursul de Histologie).

În modul de organizare se pot distinge trei sectoare:

- Compartimentul celulelor de origine (sușe) constituit din ficatul embrionar și apoi din măduva osoasă, celulele sistemului imun având același precursor cu celelalte celule sanguine (eritrocite, granulocite, monocite, plachete), în speță celula multipotentă C.F.U. (unitate formatoare de colonii);
- Organele limfatice primare (centrale): timusul și măduva osoasă (corespondentul bursei lui Fabricius de la păsări), organe de diferențiere și maturare a limfocitelor;
- Organele limfatice secundare (periferice): ganglionii limfatici, splina, țesutul limfatic atașat mucoaselor, unde se desfășoară răspunsul imun față de stimulii antigenici.

Organele limfatice primare (centrale)

Timusul. Este singurul organ limfatic primar individualizat la mamifere. Situat în mediastinul anterior, este constituit din doi lobi, divizați în lobuli incompleți prin septuri conjunctive desprinse din capsula conjunctivă care învelește organul.

Embriologic se dezvoltă din a 3-a și a 4-a pungă branhială, sub forma unor muguri epiteliali care ulterior vor forma *stroma epitelială* a timusului. Între săptămâna 11-a, 12-a până în săptămâna 20-a a dezvoltării embrionului uman, celulele sușe migrează în măduva osoasă unde se vor diferenția în limfocite pre-T și pre-B. Primele vor migra apoi în timus unde vor prolifera și se vor

Scanned with OKEN Scanner

matura în limfocite T.

Astfel timusul constituit va avea o stromă epitelială, populația de timocite și celule macrofage (de asemenea migrate).

Histoarhitectonic, fiecare lobul timic prezintă o zonă corticală caracterizată printr-o mare densitate a timocitelor (care maschează celulele stromei epiteliale) și o medulară, în care se pot distinge celulele stromale epiteliale și timocite mai puțin dense.

Celulele epiteliale au în general un aspect stelat, neregulat cu prelungiri citoplasmatice filiforme, joncționate prin desmozomi. Majoritatea lor exprimă antigene de histocompatibilitate de clasă II; în citoplasma lor s-au evidențiat granule de secreție. În zona medulară unele celule epiteliale formează corpusculii lui Hassal, structuri globuloase, eozinofile, în "bulb de ceapă" proveniți printr-un proces similar cheratinizării, a căror semnificație funcțională rămâne necunoscută. Stroma epitelială realizează micromediul desfășurării proliferării, diferențierii și maturării subclaselor limfocitelor T.

Macrofagele timice se găsesc mai frecvent la joncțiunea dintre zona corticală și medulară, au proprietăți fagocitare și exprimă antigenele de histocompatibilitate de clasă I și clasă II.

Timocitele sunt foarte numeroase în zona corticală, unde se observă frecvente figuri mitotice, dar și foarte frecvente aspecte de degenerare (cariopicnoză, carioliză etc.).

Funcțiile timusului au putut fi evidențiate atât prin modele experimentale cât și prin observații clinice.

- anomalii congenitale sau ereditare ale dezvoltării timusului, ca sindromul Di George la om (aplazia timusului și a paratiroidelor) sau în cazul șoarecilor sau șobolanilor "nuzi" (aplazia timusului), se însoțesc de lipsa răspunsului imun celular, tolerarea alogrefelor, lipsa răspunsului umoral față de antigenii timodependenți;

- timectomia neonatală la șoareci reproduce aceleași alterări imunologice;

- timectomia tardivă are drept efect în principal controlul prin supresie a răspunsului imun, favorizând apariția răspunsului față de proprii antigeni (self).

S-a putut deduce astfel că timusul este sediul maturării

Scanned with OKEN Scanner

limfocitelor T, în special în perioada fetală și neonatală.

În prezent se cunosc în parte mecanismele prin care timusul realizează funcția sa majoră:

- elaborarea de către celulele epiteliale a unui factor chimiotactic *timotaxina* (g.m. 11000) care atrage limfocitele pre-T spre timus, de natura β_2 microglobulinei;

- inducerea proliferării timocitelor în zona corticală și maturării lor, caracterizată prin apariția progresivă a markerilor caracteristici (CD_2, CD_3, CD_4, CD_8) a receptorilor pentru Il_2 și a receptorului pentru antigeni TCR. Aceste fenomene par să fie determinate de către Il1 sintetizată de celulele epiteliale și macrofage, de hormonii timici: *timopoietina, timozina, timulina*. Se știe că în corticală în paralel cu proliferarea timocitelor are loc o mare distrucție a acestora (80-90%) fenomen legat de realizarea toleranței față de self.

Prin microscopie electronică s-au evidențiat în corticala timusului fibre adrenergice, iar cercetări mai recente au dovedit prezența în timus de VIP, substanța P, neuropeptide Y astfel concluzionându-se asupra unei posibile funcții neuroimunomodulatorii.

Involuția timusului este un fenomen fiziologic, și la specia umană începe la pubertate. Involuția este progresivă, astfel la persoane în vârstă timusul este înlocuit în mare parte de țesut conjunctivo-adipos în care se mai pot recunoaște eventual corpusculii Hassal.

Funcția timusului poate fi deci sintetizată ca fiind *limfopoieza primară;* aceasta este *antigen independentă* (timocitele sunt protejate prin bariera timică de antigenii externi) și *policlonală;* datorită multiplelor mutații care au loc în cursul maturării rezultă numeroase clone (familii) celulare, fiecare clonă exprimând un anumit receptor pentru antigen.

Măduva osoasă reprezintă pe lângă organul hematopoietic și organul limfatic primar pentru limfocitele B. Similar a ceea ce se petrece în timus, micromediul măduvei determină proliferarea și maturarea limfocitelor B care își vor dezvolta markerii caracteristici

Scanned with OKEN Scanner

și receptorii pentru antigeni, care însă în acest caz sunt imunoglobuline de suprafață (Ig-s), reprezentate de IgM monomer și IgD.

Organele limfatice secundare (periferice)

Aceste organe pot fi difuze, neîncapsulate, formând țesutul limfatic atașat mucoaselor, sau încapsulate, ganglionii limfatici și splina.

În toate aceste organe se găsește o **stromă conjunctivă** - cito-fibrilară - formată dintr-o rețea de fibre reticulare și celule reticulare de natură fibroblastică, macrofagică și celule prezentatoare de antigen. Populația limfocitelor este reprezentată de limfocite T și B, aranjate în zone timodependente și timoindependente. Localizarea zonală ca și fenomenul de recirculație selectivă a limfocitelor mature, imunocompetente, se datoresc prezenței unor receptori pe celulele endoteliale, care recunosc markerii diverselor limfocite.

Organele limfatice secundare sunt sediul desfășurării răspunsului imun, în raport cu natura antigenului, calea de pătrundere etc. Întrucât un răspuns imun presupune fenomenul de transformare blastică (activare) și expansiune clonală se poate concluziona că organele limfatice secundare sunt sediul limfopoiezei secundare care este **antigen dependentă și monoclonală.**

(Pentru elementele de structură vezi cursul de Histologie).

Scanned with OKEN Scanner

COMPLEXUL MAJOR DE HISTO- COMPATIBILITATE (CMH) (SISTEMUL HLA LA OM)

Complexul major de histocompatibilitate este reprezentat de un grup de gene care codifică o serie de molecule, exprimate pe suprafața celulelor nucleate, și care formează antigenele de histocompatibilitate, cu caractere de aloantigene.

Aceste antigene au fost evidențiate la șoarece (1938) de Peter Gorer, genetician american care a stabilit legătura acestora cu fenomenul de acceptiune sau rejecție a unei grefe de la indivizi diferiți, în cadrul aceleași specii.

Ulterior (1958) Jean Dausset a descris pe suprafața leucocitelor umane molecule similare pe care le-a denumit "Human Leucocyte Antigen"; termenul antigen a fost justificat datorită producerii de anticorpi de către aceste molecule.

Aspecte genetice. Genele CMH, care codifică moleculele HLA au drept caracteristică un mare polimorfism. Ele se găsesc localizate la om pe lanțul scurt al cromozomului 6. Există două grupe de gene, de clasă I și de clasă II, la care se atașează, oarecum convențional o familie de gene de clasă III (care codifică unele molecule ale sistemului complement).

Genele de clasă I cuprind grupa A (24 alele), grupa B (50 alele) și grupa C (11 alele).

Genele de clasă II cuprind grupul D cu loci DR (20 alele), DQ (9 alele) și DP (6 alele).

Genele de clasă III codifică factorul C_4, B_b și C_2 din cadrul sistemului complement.

Transmiterea genelor CMH se face autosomal, codominant, în

Scanned with OKEN Scanner

bloc sub formă de haplotip. Din acest motiv într-o familie între frați (surori) pot să apară:

- identitate în 25% din cazuri când descendenții capătă același haplotip maternal și același haplotip paternal;
- semiidentitate în 50% din cazuri când descendenții iau un singur haplotip identic fie maternal fie paternal;
- neidentitate (diferență unde urmașii au haplotipuri diferite maternal și paternal).

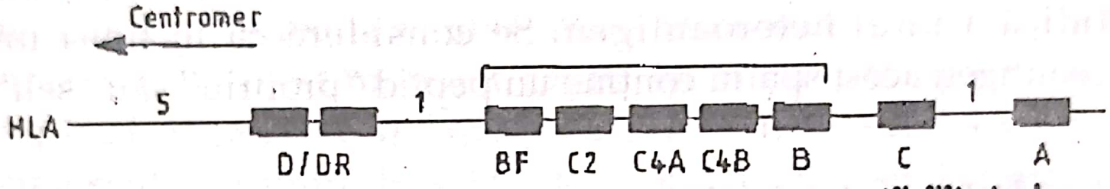


Figura 21 - **Complexul major de histocompatibilitate la om**

Aspecte imunologice

Moleculele codificate de CMH se găsesc inserate în membranele celulare și sunt permanent reînoite; ex: molecula de clasă II se reînlocuiește (turn-over) la fiecare 10-15 ore. Aceste molecule se găsesc și sub formă solubilă (ascită, plasmă, spermă).

Molecula HLA de clasă I (denumită și antigen de clasă I)

Se găsesc pe toate celulele nucleate ale organismului; ele lipsesc de pe suprafața hematiilor. Țesuturile și organele fiind formate din celule se utilizează și termenul de antigene tisulare. Țesutul osos, cartilaginos și nervos conțin mai puține antigene de histocompatibilitate.

Antigenul de clasă I este un lanț polipeptidic (339 aminoacizi glicozilați) cu o g.m. de 45 kD asociat non covalent cu un polipeptid de 12kD, β_2-microglobulina, care nu este codificată în CMH.

Lanțul polipeptidic are 3 domenii extracelulare α_1, α_2, α_3, o regiune transmembranară și o porțiune intracitoplasmatică. Domeniul α_1 care este NH_2 terminală are câteva zone

Scanned with OKEN Scanner

hipervariabile. Papaina eliberează prin hidroliză domeniile extracelulare. Prin analogie cu molecula de Ig lanțul polipeptidic este un lanț greu iar β_2 microglobulina un lanț ușor, care stabilizează conformațional antigenul de clasă I.

Prin analize cu raze X și cristalizare s-a putut determina structura spațială a moleculei. Printr-o aranjare particulară domeniile α_1 și α_2 realizează un șanț format din 8 foițe (similar unui buzunar) care este sediul în care se fixează fracțiunea peptidică a unui heteroantigen. Se consideră că în lipsa unui heteroantigen acest spațiu conține un peptid "propriu" sau "self".

Molecula HLA de clasă II

Distribuția acestor molecule este mult mai restrânsă; posedă astfel de molecule limfocitele B, celulele sistemului mononuclear fagocitar, celulele Langerhans, celulele dendritice; cu alte cuvinte celulele prezentatoare de antigeni (în condiții patologice pot apare și pe alte celule).

Acest antigen este un heterodimer, alcătuit din două lanțuri polipeptidice, α (cam 30 kD) și β (26 kD). El conține patru domenii extracelulare α_1, α_2 și β_1, β_2; fiecare monomer are o porțiune transmembranară și o porțiune intracitoplasmatică. Și moleculele de clasă II sunt glicozilate și conțin punți disulfidice.

Molecula de clasă II mai apare pe limfocitele T activate.

Rolul imunologic al antigenelor HLA

După cum s-a amintit, antigenele timodependente nu pot fi recunoscute în stare nativă de către limfocitele T. Recunoașterea acestor antigene, fragmentate în peptide de către celulele imunocompetente se face numai prin **recunoașterea simultană** a fragmentului peptidic și a moleculei HLA care are asociat (în jgheabul pe care-l formează) peptidul respectiv. Acest fenomen se realizează numai în situația în care celula prezentatoare de antigen, sau celula țintă și limfocitul T (helper sau citotoxic) au antigene

Scanned with OKEN Scanner

HLA identice (adică aparțin aceluiași individ).

Zinkernagel și Doherty în 1974 au evidențiat și descris acest fenomen sub denumirea de **restricție alogenică.**

Moleculele de clasă I realizează două funcții importante: în cadrul *răspunsului imun* și în cadrul *rejecției grefei alogenice*.

În răspunsul imun moleculele derivate datorită unei infecții virale sau cu microorganisme intracelulare sunt exprimate și integrate în membrana acestor celule, împreună cu antigenele HLA de clasă I. În acest moment celula își manifestă apartenența la propriul organism și faptul că a fost infectată; ea poate fi recunoscută de limfocitul CD_8 citotoxic și devine celulă țintă.

La fel o moleculă rezultată din metabolismul deviat al unei celule tumorale devine antigenică și poate fi recunoscută de limfocitul CD_8 citotoxic.

În reacția de respingere a grefei antigenele HLA de clasă I neautologi sunt recunoscuți determinând răspuns prin citotoxicitate.

Moleculele de clasă II - prezente pe celulele prezentatoare de antigen. Ocupă un rol central în răspunsul imun față de antigenele timodependente. După endocitarea antigenelor native, acestea sunt parțial degradate în peptide, care apoi sunt reexprimate pe membrana CPA în "nișa" sau jgheabul moleculei HLA de clasă II, acest complex putând fi recunoscut de limfocitele CD_4, determinând activarea lor. Particularitatea unui individ de a fi "bun răspunzător" față de un stimul antigenic este strâns legată de structura biochimică a moleculei HLA de clasă II.

Se consideră că moleculele HLA de clasă II aloantigenice (de la un alt individ) sunt recunoscute ca autoantigene modificate contribuind astfel la răspunsul de respingere a grefei.

În concluzie, prin polimorfismul lor și modul de transmitere moleculele HLA determină existența a foarte variați aloantigeni, conferind o "personalitate imunologică" fiecărui individ din cadrul unei specii. Acești antigeni fac netolerabilă alografa, dar în același timp reglează cu mare finețe răspunsul imun mediat celular sau umoral față de antigeni timodependenți.

Scanned with OKEN Scanner

DINAMICA RĂSPUNSULUI IMUN

Răspunsul imun se desfășoară, în condiții fiziologice sub forma unei suite de evenimente biologice complexe începând cu recunoașterea factorului stimulant (antigenul) și încheindu-se cu producerea de efectori și celule cu memorie. În cadrul desfășurării acestui lanț de evenimente biologice, intervin celule, molecule care realizează cooperări foarte fine menite să asigure calitatea și intensitatea corespunzătoare a unui răspuns imun.

Moleculele semnal. Se folosește termenul de "moleculă semnal" sau "mesager biologic" pentru substanțe care induc o activitate biologică la nivel celular, atunci când acestea au recunoscut o moleculă ligand specifică, printr-un receptor.

În imunologie moleculele semnal sunt acelea care determină:

- activarea limfocitelor prin recunoașterea antigenelor;
- interacțiunile celulare generatoare de efectori ai răspunsului imun.

Se pot distinge două categorii de molecule semnal:

- molecule exprimate pe membrana celulară care fac posibilă recunoașterea antigenului și declanșarea modificărilor precoce intracelulare: receptori și molecule cu rol în adeziune;
- molecule sintetizate și eliberate de celule, *interleukine* cu rol în modificări celulare tardive.

Receptori

Pentru inducerea unui semnal intracelular este necesară cuplarea ligandului (în imunologie a antigenului) de receptorul specific, realizându-se **o adeziune ligand-receptor.**

a) **TCR - receptorul pentru antigene** este un heterodimer cu un situs de recunoaștere a antigenului (zonă variabilă) adaptat

Scanned with OKEN Scanner

polimorfismului antigenic. Recunoașterea este restrictivă alogenic; limfocitele CD_4 recunosc heteroantigenul în asociație cu antigenul CMH de clasă II, limfocitele CD_8 în asociație cu antigenul CMH de clasă I. Limfocitele care posedă TCR$\gamma\delta$ fiind CD_4-, CD_8- nu au restricție alogenică în recunoaștere.

b) **molecula CD_3** este asociată receptorului TCR. Este constituită din 3 lanțuri polipeptidice diferite (γ, δ, ε) și un dimer ζ (z), și este atașată receptorului non covalent. Ca rezultat al recunoașterii antigenului CD_3 suferă o modificare conformațională; lanțul ε este implicat în mobilizarea Ca^{++} intracelular, iar lanțurile ζ prin fosforilare sunt implicate în transmiterea semnalului intracelular.

Molecule de adeziune

Sunt molecule membranare (au și caractere de markeri) care au proprietatea de a determina adeziunea față de alte molecule cu structură echivalentă, dar **complementară** ca organizare și în general de încărcare electrică diferită:

- **molecula CD_2** are ca ligand natural molecula LFA_3 (CD_{58}) - prezentă pe celulele prezentatoare de antigen;
- **molecula LFA_1** are ca ligand dimerul CAM (CD_{54});
- **moleculele CD_4 și CD_8** recunosc antigenele CMH de clasă II, respectiv de clasă I (figura 22).

Prin toate aceste molecule se realizează condițiile biologice de recunoaștere a antigenului, de adeziune intercelulară și de transmitere intracelulară a semnalului.

Folosirea anticorpilor monoclonali a putut demonstra că blocarea oricăreia dintre moleculele componente enumerate, poate împiedica inițierea unui răspuns imun. Aceste exprimente dovedesc că pentru limfocitele T se poate vorbi despre un complex molecular cu rol de receptor și transmițător de semnal, ca urmare a contactului cu un antigen (figura 23).

Scanned with OKEN Scanner

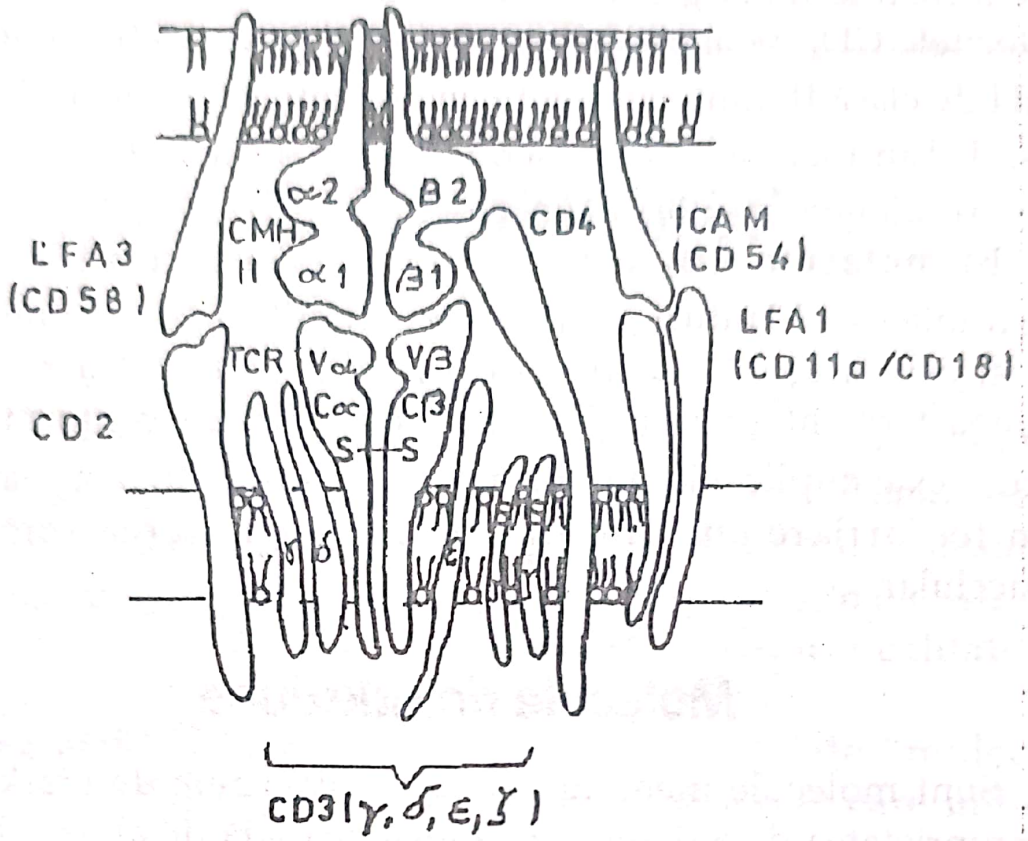


Figura 22 - Schema adeziunii celulei prezentatoare de antigen cu limfocitul T_4

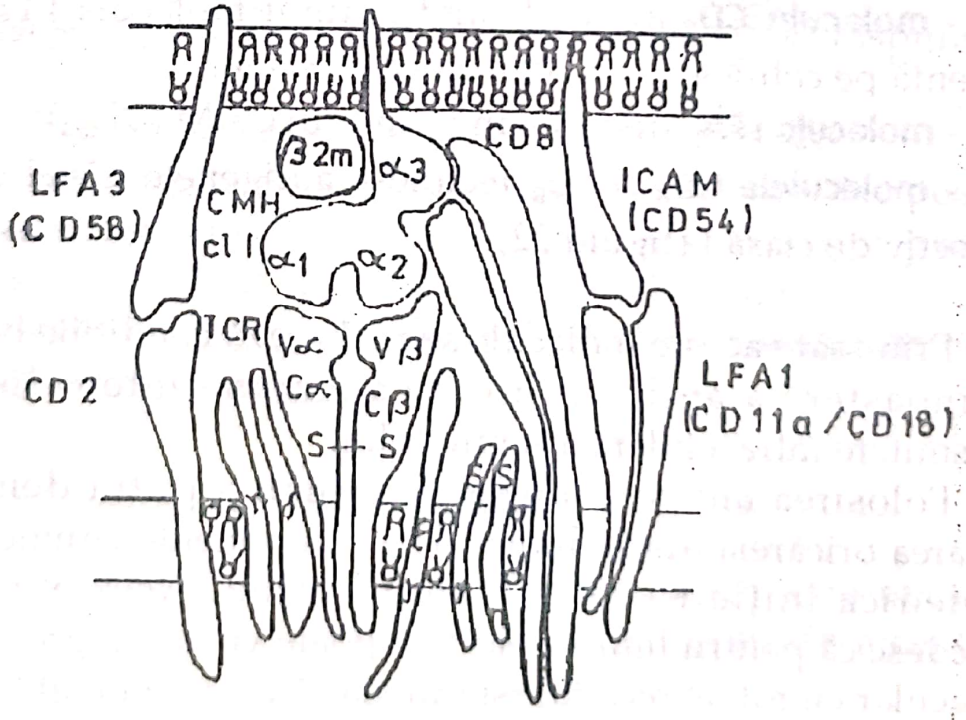


Figura 23 - Schema adeziunii limfocitului T_8 - celulă țintă

Moleculele de comunicare

Sunt reprezentate de interleukine, glicoproteine de G.m. mică (sub 50kD). Acțiunea lor se desfășoară prin fixare pe receptori specifici de membrană, la cantități foarte mici (picomoli). Pot acționa la distanță (tip endocrin de acțiune), local (tip de acțiune paracrin sau autocrin). Interleukinele (Il) fac parte din familia **citokinelor** și nu au între ele omologie structurală (spre deosebire de superfamilia Ig).

Transducția semnalului

Rezultatul cuplajului receptor-moleculă semnal (ligand) este activarea celulelor urmată de proliferare (expansiunea clonală) și diferențiere în celule specializate.

Mecanismul transducției nu este specific limfocitelor, ci are un caracter general, aplicabil și altor celule care transduc semnale.

Principalele etape sunt:

- recepția semnalului de către receptorul membranar este transmisă transmembranar de o proteină din familia proteinelor G;
- proteina G activează o enzimă membranară amplificatoare care transformă precursori fosforilați în cel de-al doilea mesager;
- cel de-al doilea mesager activează alte proteine prin legarea lor de Ca++, prin fosforilare sau defosforilare a unei proteine.

Rezultatul acestor cascade de fosforilare și defosforilare este: modularea receptorilor celulari, activarea unor gene, sau declanșarea sintezei de ADN (vezi schema).

Răspunsul imun mediat celular

Se realizează printr-o serie de cooperări celulare între celulele prezentatoare de antigen și limfocitele T CD_4 pe de o parte și între limfocitele T CD_4 și T CD_8 precursoare ale limfocitelor T citotoxice.

Scanned with OKEN Scanner

Etapele desfășurării răspunsului mediat celular

Prezentarea antigenului. Este realizată de CPA care au proprietatea de a cliva antigenul nativ proteic (timodependent) în peptide, după endocitoza acestuia, și reexprimarea peptidelor în "cupa" sau "jgheabul" antigenului de clasă II. Celulele Langerhans, celulele dendritice, limfocitele B și parte dintre monocite/macrofage exprimă tot timpul (în mod constitutiv) antigene CMH de clasă II; unele celule epiteliale, endoteliile, o parte dintre monocite/macrofage și limfocitele T activate, exprimă antigene CMH de clasă II după ce asupra lor acționează interferonul γ (IFNγ). CPA sintetizează și Il1 care reprezintă un semnal accesoriu dar necesar activării limfocitelor T_4.

CPA care posedă de o manieră constitutivă antigenul CMH de clasă II sunt inițiatoare ale răspunsului imun; cele care îl exprimă după activare prin IFNγ intervin ulterior ca amplificatoare ale răspunsului imun.

Activarea limfocitelor T

După adeziunea CPA-$LTCD_4$ (sau $LTCD_8$) și recunoașterea antigenului de către TCR se declanșează procesul de activare. Morfologic se remarcă creșterea volumului celulei, a bazofiliei citoplasmei, aspecte caracteristice trecerii unei celule din stadiul G_0 în G_1. În faza G_1 au loc fenomene biochimice preparative în vederea sintezei ADN (replicarea semiconservativă) caracteristică fazei S a ciclului celular.

Stimularea receptorilor determină hidroliza fosfo-inozitolului membranar și producerea de inozitol-trifosfat (I.P.3) și diacilglicerol (DAG). Intracelular se produce o creștere a Ca^{++} care este mobilizat de către IP3 din reticulul endoplasmatic și prin aflux de Ca++ extracelular. DAG activează proteinkinaza C (PKC); o serie de proteine sunt fosforilate. Proteine citoplasmatice sub formă de complexe inactive, se activează (ex: proteina NF-κB) și vor fi translocate intranuclear în scopul activării unor gene cum ar fi gena receptorului pentru Il_2 și sinteza și exprimarea Il_2.

Scanned with OKEN Scanner

Proliferarea celulelor activate

Lanțul α al receptorului pentru Il_2 (CD_{25}) sintetizat în cursul activării se va asocia lanțului β al receptorului Il_2 - constituindu-se astfel receptorul complet sub formă de dimer α, β. Il_2 sintetizată în cursul activării se va lega pe receptorul Il_2 (fenomene de autocrinie). Complexul receptor-Il_2 va fi endocitat și va constitui semnalul pentru trecerea în faza S a ciclului celular. Urmează faza G_2 și apoi mitoza (M) stimulată de fosforilări și defosforilări proteice.

Consecința succesiunii acestor cicluri este generarea unei clone celulare (familie celulară genetic identică).

Diferențierea limfocitelor T citotoxice

Prin expansiune clonală limfocitele TCD_4 vor da naștere celulelor cu memorie, de viață lungă (care capătă o nouă caracteristică genotipică, molecula CD_{29}) cu mari proprietăți de proliferare în prezența antigenului specific, mari producătoare de Il_2, IFNγ. În același timp aceste celule prin secreția de limfokine vor activa limfocitele T_8 citotoxice.

Dintre limfocitele pre-T citotoxice vor deveni citotoxice, acelea care recunosc antigenul inductor. Acest antigen se poate afla pe CPA sau pe oricare celulă care va fi ținta citotoxicității, în ambele situații în asociație cu antigenul CMH de clasă I.

În timp ce antigenul prezentat limfocitelor TCD_4 este un exoantigen preluat și prelucrat de către CPA, antigenul prezentat limfocitelor TCD_8 este un **endoantigen**, produs al sintezei celulei țintă, care-l exprimă pe suprafață (ex. celula infectată cu virus, celula neoplazică).

Limfocitele pre-T citotoxice selectate (prin recunoașterea antigenului) devin efectoare prin limfokinele sintetizate de limfocitul TCD_4 și care vor acționa în mod paracrin. Principalele interleukine cu rol în activarea limfocitelor TCD_8 citotoxice sunt Il_2,

Scanned with OKEN Scanner

IFNγ, Il_4 și Il_6 (Il_4 crește sensibilitatea față de Il_2).

Mecanismele citolizei

Etapele citolizei sunt similare, indiferent de celula citolitică. Aceste celule conțin în citoplasma lor enzime citolitice denumite **perforine** sau PFP (pore forming protein), capabile de a se insera în membrana celulei țintă și de a crea astfel un por membranar deschis. Structura este asemănătoare complexului de atac membranar al complementului. Se mai găsesc serin esteraze și proteoglicani sulfatați cu rol de inactivare a perforinelor în vederea protejării celulei citolitice.

În desfășurarea citolizei se pot descrie următoarele etape:

- adeziunea celulară denumită și "sărutul mortal"
- migrarea granulelor spre zona de adeziune;
- crearea porilor membranari în celula țintă.

Celulele citotoxice produc și citokine (TNF și IFNγ) care potențializează citoliza și protejează celula citotoxică (spre exemplu contra virusului eliberat în desfășurarea citolizei).

Răspunsul umoral

Producerea de IgG, ca efectori ai răspunsului imun umoral, necesită proliferarea limfocitelor B sub forma unei clone specifice față de un Ag și diferențierea în plasmocite, celule sintetizante de anticorpi specifici. Aceste fenomene impun într-o primă etapă recunoașterea antigenului de către limfocitele B, care posedă receptori de tip imunoglobulinic.

Acești receptori de membrană au o mare diversitate, consecința rearanjamentelor genice; aceasta determină existența unei imense varietăți de clone de limfocite B.

Interacțiunea antigen-receptor se realizează în zona hipervariabilă a lanțurilor grele și ușoare a moleculei de Ig - receptor al limfocitelor B.

Prin modele experimentale s-a demonstrat că limfocitele B pot recunoaște direct antigene native de tip liniar, cu epitopi repetitivi.

Scanned with OKEN Scanner

Interacțiunea poate astfel realiza "pontaje", care antrenează o redistribuire a Ig membranare, constituind semnale de activare. Astfel de antigene T-independente (ex: polizaharide bacteriene) reprezintă o minoritate printre antigenele cu care un organism este confruntat (figura 24).

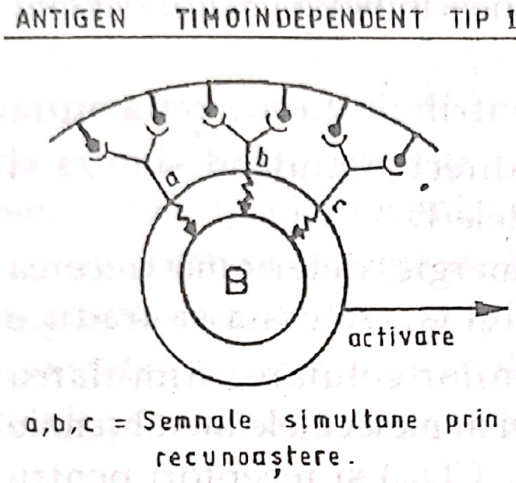


Figura 24

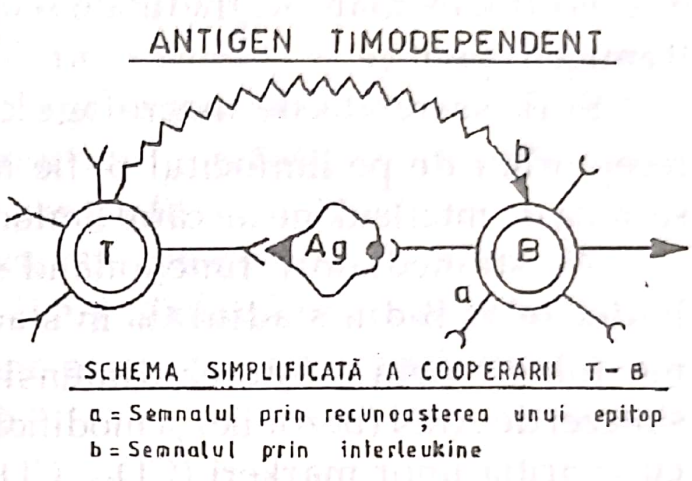


Figura 25

Majoritatea antigenelor naturale, pentru a putea determina activarea limfocitelor B, impun intervenția limfocitelor T_4 (helper, ajutătoare), în cadrul unui **fenomen de cooperare** intercelulară.

În cadrul acestui fenomen se realizează două tipuri de interacțiuni:

- antigen specifice prin contact T/B; aceasta este sub restricție alotipică, limfocitele T trebuind să recunoască molecule de histocompatibilitate de clasă II (aloantigeni) exprimate de limfocitele B. Prin Ig de membrană (receptori) limfocitul B va recunoaște unul /unele dintre determinantele antigenice (tip haptenă). Limfocitele T_4 (ajutătoare) în cadrul fenomenului de cooperare vor recunoaște fragmente polipeptidice ale moleculei antigenice care funcționează ca și cărăuși în contextul $TCR/CD_3/CD_4$, similar recunoașterii antigenice în răspunsul imun celular (figura 25);

- antigen nespecifice, în care limfocitele T activate, prin recunoașterea antigenului prezentat, secretă factori solubili (molecule) care pot determina activarea limfocitelor B, în absența cooperării T/B.

Scanned with OKEN Scanner

În ambele situații în asociație cu moleculele receptori Ig pe limfocitele B se găsește o moleculă transmembranară cu anumite asemănări cu molecula CD_3 a limfocitelor T, cu rol de transductor al semnalului. Există și posibilitatea ca activarea limfocitelor B să aibă loc sub acțiunea Il_4, care mărește expresia moleculelor CMH de clasă II, care mărește gradul de "cognoscibilitate" al limfocitelor B antigen specifice.

Și Il_1 secretată de macrofage contribuie fie direct asupra receptorilor de pe limfocitul B, fie indirect stimulând sinteza și secreția de interleukine de către limfocitele T.

Acești mediatori, funcționând sinergic, determină trecerea limfocitelor B din stadiul G_0 în stadiul G_1. Aceasta se traduce morfologic prin creșterea dimensiunilor celulare, stimularea sintezei de ARN (bazofilie) și modificări în moleculele membranare cu apariția unor markeri (CD_{23}, CD_{39}, CD_{40}) și receptori pentru semnalele ulterioare.

Modificările biochimice intracelulare sunt similare celor care apar în alte activări celulare (producere de inozitol trifosfat, diacilglicerol, creșterea Ca++ intracelular, activarea proteinkinazelor).

Proliferarea celulelor activate este rezultatul parcurgerii fazelor S și G_2 urmate de mitoză. Această etapă nu mai presupune restricție alogenică și se realizează datorită unor factori solubili produși de limfocitele T activate. Aceștia sunt:

- BCGF (factori de creștere celulară);
- BCDF (factori de diferențiere celulară);
- BSF (factori stimulatori B).

S-a constatat că este necesară o activitate coordonată a eliberării acestor factori pentru a rezulta efecte sinergice și nu antagonice. Mai multe cicluri de diviziune succesive generează o clonă de limfocite B cu același idiotip cu limfocitul B activat.

Diferențierea în plasmocite, celule sintetizante de anticorpi.

Reprezintă etapa terminală și se găsește tot sub controlul factorilor de diferențiere produși de limfocitele T. Acești factori

Scanned with OKEN Scanner

determină transformarea limfocitelor B în plasmocite, nivelul producerii de Ig și induc fenomenul de comutare a claselor de Ig produse. Fenomenul de comutare (switch) constă în producerea de către aceeași clonă de limfocite B, în mod succesiv, a unor anticorpi (Ig) cu aceeași specificitate dar cu lanțuri grele diferite; el este determinat de un mecanism de rearanjare genică, adică de asociere a unor secvențe de ADN care codifică variabilele Ig cu gene a unor alte domenii constante. În concluzie se modifică numai izotipul dar rămâne același idiotip (identic cu idiotipul receptorului membranar Ig a limfocitului B parental).

Il_6 (vechiul BCDF) este factor de diferențiere, Il_4 este implicată în producerea de IgG_1 și IgE, IFNγ diminuă producerea de IgG_2. Diversitatea secreției de citokine pare a fi condiționată de tipul de celulă prezentatoare de antigen.

Citokine

Sunt substanțe solubile produse de diferite celule, cu efecte biologice importante asupra altor celule din vecinătate sau la distanță. Inițial aceste substanțe au fost definite prin efectele lor biologice, fiind demonstrate cel puțin 150 efecte diferite. Progresele tehnice mai recente (după 1980: hibridare celulară, recombinare genică, secvențializarea proteinelor) au permis caracterizarea apoi producerea unor citokine. S-a demonstrat astfel că o citokină poate avea efecte multiple și poate fi produsă de mai multe tipuri celulare.

Celule producătoare de citokine

Principalele celule producătoare sunt: limfocitele T activate și celulele din cadrul sistemului mononuclear fagocitar.

Limfocitele T sunt principalele producătoare de Il_6, TNFβ, Il_2, Il_4, Il_5, IFNγ (figura 26).

Macrofagele produc Il_1, Il_6, TNFα, citokine cu acțiuni asupra elementelor sistemului imun, dar și asupra altor celule (ex: celule

Scanned with OKEN Scanner

progenitor, celule implicate în procesele de anabolism și catabolism general) (figura 27).

Celulele implicate în procesul inflamator pot sintetiza citokine; de asemenea celulele care exprimă antigene de histocompatibilitate de clasă II.

Proprietăți generale ale citokinelor

Toate citokinele sunt glicoproteine care aparțin superfamiliei imunoglobulinelor. Nivelul de glicozilare este variat, dar acesta nu influențează direct activitatea biologică.

Sinteza citokinelor se realizează "de novo", în momentul activării celulei producătoare, prin activarea ARN mesager fără sinteză de ADN (ex: limfocitele produc citokine fără a intra în proliferare).

Modul de acțiune al citokinelor este de tipul mesager-receptor. Celulele țintă au receptori de mare afinitate și specificitate, ceea ce explică efectul citokinelor în cantități de picomoli. Contactul ligand-receptor induce în celulele țintă producerea de mesageri secundari. Acțiunea este mai frecvent de tip autocrin și/sau paracrin, mai rar de tip endocrin (la distanță) cum ar fi asupra măsuvei osoase, SNC, metabolism hepatic.

Se pot distinge trei mari grupe de acțiuni:

- Asupra sistemului imun: activare și maturare a limfocitelor, recrutarea și activarea celulelor citotoxice;
- Asupra precursorilor hematopoiezei: celula multipotentă, celule progenitor (ex: Il_3-maturarea mastocitelor mucoaselor, Il_7-diferențierea limfocitelor pre-T și pre-B, CSFGM, diferențierea monocitelor și granulocitelor).
- Asupra dinamicii procesului inflamator. Il_1, Il_6, TNF acționează ca hormoni modificând procesele anabolice și catabolice generale în cursul desfășurării inflamației.

Cunoașterea unor citokine a deschis și posibilități de utilizare a lor în scop terapeutic.

Scanned with OKEN Scanner

Figura 26 - Citokine produse de limfocite

Scanned with OKEN Scanner

Figura 27 - Citokine produse de macrofage

Scanned with OKEN Scanner

Reglarea răspunsului imun

Pătrunderea unui imunogen în organism, în condiții fiziologice de funcționare a sistemului imun, determină un răspuns umoral și/sau celular, cuantificabil, care se amplifică progresiv, până la un punct, după care regresează. Această regresiune se datorează apariției și dezvoltării unor mecanisme complexe de reglare. Mecanismele de reglare se dezvoltă în însăși sistemul imun, dar intervin și alte mecanisme în cadrul reacțiilor generale ale organismului (sistem nervos, endocrin, etc.).

Cu referire la sistemul imun se poate vorbi despre mecanisme de reglare intrinseci și mecanisme extrinseci.

Reglarea prin anticorpi

Date experimentale au demonstrat că îndepărtarea anticorpilor pe măsură ce ei se produc, determină o continuare de sinteză de anticorpi, practic la nesfârșit. Rezultă că însăși prezența la un anumit titru a anticorpilor specifici determină o diminuare a răspunsului.

Anticorpii de mare afinitate. În cadrul răspunsului primar, la pătrunderea antigenului, există relativ puține limfocite B cu receptori specifici față de antigen; ele vor reacționa prin producere de anticorpi. Proliferarea acestor clone determină progresiv dispariția antigenului. În timp însă, apare o competiție față de antigen și numai clonele cu receptori de mare afinitate vor continua să fie stimulate, astfel ca anticorpii din partea finală a răspunsului imun vor fi de mare afinitate față de antigen. Aceștia vor capta antigenul până la dispariția sa. Anticorpii de mare afinitate elimină antigenul prin formarea de complexe imune și adeziunea acestora la receptorii Fcγ ai celulelor fagocitare; activarea complementului pe cale clasică și depunerea de C_{3b} de complexe mărește deasemenea legarea de celulele fagocitare. În plus limfocitele B au receptori Fcγ; complexele vor putea astfel realiza pontaje între receptorii Ig ai limfocitelor și Ig fixate pe antigen, cu efecte blocante asupra activării limfocitelor.

În cazul prezenței antigenelor pe suprafețe celulare, aceștia

Scanned with OKEN Scanner

pot fi mascați de anticorpii de mare afinitate, făcând imposibilă distrucția celulelor țintă. În acest caz se realizează *un efect facilitant* (ex. în unele tumori induse la șoareci, mascarea unor antigeni trofoblastici și împiedicarea rejetului placentei la mamifere care reprezită o alografă).

S-a descris deasemenea o inhibare sau diminuare a limfocitelor T în cazul complexelor imune în exces de antigen.

Reglarea izotipică. La specia umană, în condiții fiziologice, concentrația diferitelor clase de Ig în ser este constantă. În caz de mielom, de exemplu, producerea masivă a unei imunoglobuline monoclonale, determină scăderea marcată a imunoglobulinelor de același izotip. Această reglare ar putea fi explicată prin intervenția unui fragment solubil al receptorului Fc pentru izotipul considerat, care ar servi ca "analizator" al concentrației acestui izotip (cazul sintezei de IgE). Citokine ca Il_4, Il_5, IFNγ ar putea interveni ca verigi intermediare.

Anticorpii anti-idiotip. Este demonstrat că idiotipul unui anticorp (regiunea hipervariabilă) reprezintă un determinant antigenic față de care fiecare individ produce anticorpi antiidiotip. Un antigen generează deci producerea de anticorpi față de epitopii săi dar în același timp aceștia generează producerea de antiidiotipi. Aceștia posedă o organizare spațială a regiunii variabile similară epitopilor antigenului. Cu cât producția de anticorpi este mai mare, și produ-cerea de antiidiotipi este mai mare. Răspunsul imun determină progresiv diminuarea antigenului, iar anticorpii antiidiotip vor recunoaște și vor determina reducerea anticorpilor generați de antigen. În plus anticorpii antiidiotip vor recunoaște și Ig receptori ai limfocitelor stimulate de antigen. Efectul acestei recunoașteri poate fi inhibant dacă este vorba despre anticorpi antiidiotip "extern" sau stimulant dacă este vorba despre antiidiotip "intern". În mod schematic desfășurarea poate fi reprezentată ca $Ag \rightarrow Ac_1 \rightarrow A_2 \rightarrow A_3$... în care Ac_1 are paratopul adaptat epitopului antigenului, Ac_2 are paratopul corespunzător "epitopului Ac_1", Ac_3 corespunzător pentru Ac_2 etc.

Este vorba despre o cascadă care stabilește o "rețea idiotipică". În lipsa unui stimul antigenic rețeaua este în echilibru;

Scanned with OKEN Scanner

prezența antigenului rupe echilibrul care apoi prin cascadă se restabilește.

Reglarea prin limfocite T supresor

În prezent este unanim acceptat conceptul de supresie efectuat de limfocite Ts asupra limfocitelor T efectoare. Activitatea supresivă este implicată în mecanismele de reglare a răspunsului imun, dar și în fenomenele de toleranță imunologică. Astfel disfuncțiile supresive generează stări de hipersensibilitate și participă ca mecanism în producerea bolilor autoimune.

Se acceptă că fenotipul limfocitelor Ts este CD_8^+ fără a se fi putut demonstra particularități față de limfocitele T citotoxice (tot CD_8^+). Demonstrarea existenței fiziologice de limfocite T autoreactive (capabile de a determina citotoxicitate față de propriile structuri) ca și evidențierea rețelei idiotipice ridică noi probleme asupra activității supresive.

Deși au fost descrise pe modele experimentale limfocite Ts nespecifice, Ts antigen specifice și Ts idiotip specifice, acestea nu au putut fi demonstrate în mod convingător la om.

Efectele supresive, există fără îndoială, și limfocitele Ts acționează prin cooperare intercelulară, recunoaștere și sinteză și elaborare de "molecule solubile semnal" cu efecte supresive.

Citokinele sunt principalii factori implicați în supresia răspunsului imun. TGFβ, produs în principal de macrofage ca și IFNγ produs de limfocitele T activate s-au dovedit a avea efecte inhibitorii asupra limfocitelor. Alte citokine ca Il_1, Il_6, Il_2, Il_4 pot retroinhiba propria sinteză când sunt poduse în cantități mai mari; în același timp pot inhiba sinteza propriilor receptori. Unele citokine pot acționa la distanță determinând producerea de imunosupresori (progesteron, corticosteroizi).

Alți factori cu efecte reglatoare

Macrofagele au proprietatea de a sintetiza Il_1, factor activator al limfocitelor T și prostaglandine (PGE_2) cu efecte inhibitorii. În

Scanned with OKEN Scanner

plus Il_1 are și efecte auto-retroinhibitorii asupra macrofagelor.

Capacitatea de prelucrare antigenică a macrofagelor este controlată genetic. Au putut fi selecționați, experimental șoareci cu răspuns imun bun și șoareci cu răspuns imun scăzut. Primii posedă macrofage care degradează antigenul mai lent, în timp ce ceilalți au un ritm rapid de degradare a antigenului. Controlul genetic este sub dependența a 10-14 gene, în afara complexului major de histocompatibilitate.

Hormonii au efecte modulatoare, ex. glicocorticoizii acționează supresiv, estrogenii au efecte stimulatoare.

Molecule rezultate din desfășurarea răspunsului imun. Il_1 este retro-reglată prin Il_4, IFNγ și chiar Il_1. TGFβ (factor de creștere transformator) are activitate anti Il_2. Prostaglandinele, ex. PGE_2 activatoare a AMPc inhibă eliberarea de Il_1 și TNFα, ca și Il_2.

Alfa globulinele produse în cadrul procesului inflamator (α-2 macroglobulina) și cele din sarcină au efecte supresive.

Neuromediatori, neuropeptide. Numeroase studii au evidențiat interacțiuni certe între sistemul nervos și sistemul imun. Astfel noradrenalina scade răspunsul proliferativ și citotoxicitatea limfocitelor în timp ce β-endorfinele au efect contrar. Citokinele (Il_1, Il_6) au efect asupra secreției de neuromediatori și neuropeptide de către sistemul nervos.

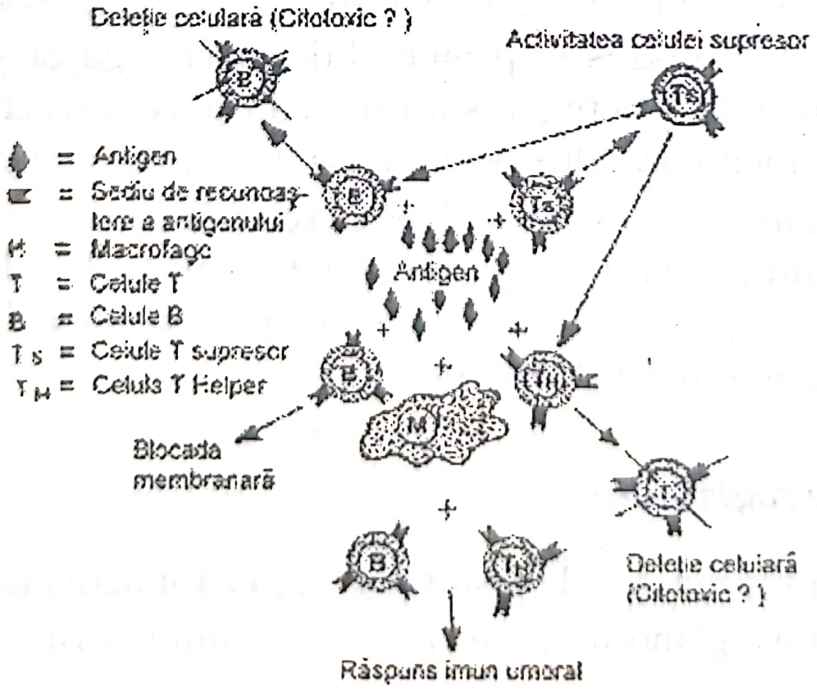


Figura 28

Scanned with OKEN Scanner

Citotoxicitatea mediată celular

Printre mecanismele efectoare în cadrul răspunsului imun, un rol important îl reprezintă proprietatea unor celule imunocompetente de a distruge celulele țintă "non self" sau proprii devenite "non self".

Celulele citotoxice pot fi grupate în raport de specificitatea antigenică și restricția prin CMH:

- limfocitele citotoxice (CTL) au specificitate de antigen și sunt supuse restricției prin CMH;
- limfocitele NK și LAK sunt fără specificitate de antigen și fără restricție;
- sistemul macrofagic poate fi inclus printre celulele cu proprietăți citotoxice.

a) **Limfocitele T citotoxice (CTL)**

CTL sunt în majoritate limfocite CD_8^+ (mai rar au fost descrise și CD_4^+) care au pe suprafața lor markerii caracteristici: complexul TCR-CD_3, CD_2, LFA_1. CTLCD_8^+ recunosc antigenul de histocompatibilitate de clasă I, CTLCD_4^+ recunosc antigenul de histocompatibilitate de clasă II.

Specificitatea este mare; ex. indivizi infectați cu virus, HLA-A_2 dezvoltă CTL capabile de a liza celule infectate aparținând numai tipului HLA-A_2. Molecula HLA se comportă ca un prezentator de antigen. Diferite molecule de HLA pot fi mai bune sau mai puțin bune "prezentatoare".

Antigenul este în general o moleculă proteică *catabolizată sub formă de peptide*. Epitopii recunoscuți sunt de obicei peptide scurte (până la 15 aminoacizi), prezentați într-un jgheab (buzunar) format din molecula HLA de clasă I. Originea proteinei antigenice poate fi o moleculă fagocitată sau rezultată dintr-o sinteză endogenă (endocelulară) cum ar fi fragmente de proteine virale.

b) **Celule citotoxice dependente de anticorpi**

Sunt capabile de a efectua citotoxicitate, dacă ținta este învelită cu anticorpi, chiar dacă celula țintă nu exprimă un anumit fenotip HLA. Specificitatea față de antigen în acest caz este dată de moleculele de anticorpi. Astfel mononucleare recoltate de la un

individ neimunizat pot fi citotoxice față de celule purtătoare de antigeni (indiferent de fenotipul HLA) dar în prezența unui ser imun specific.

Aceste celule au fost denumite *celule K (killer)*. Ele pot fi limfocite citotoxice care posedă RFc.

- limfocite NK care posedă molecula CD_{16} (receptor de mică afinitate pentru Ig);
- limfocite Tγ.

În procesul de recunoaștere nu intervine complexul TCR-CD_3. Similar acționează și alte celule purtătoare de RFc cum sunt macrofagele, polimorfonuclearele eozinofile. Anticorpii responsabili sunt IgG, numiți citofili. Prin anticorpi se pot recunoaște antigeni nativi, neprelucrați și prezentați, dar fixați pe ținte. De aici rezultă și lipsa restricției CMH.

Limfocitele NK există la toți indivizii și au citotoxicitate naturală față de unele linii tumorale și față de celulele infectate cu virus. Se pot evidenția prin prezența moleculelor CD_{16} și CD_{57}. Prezintă unii markeri ai limfocitelor T(CD_2) și ai macrofagelor: CD_{11a} (molecula de adeziune LFA_1) și CD_{11c} (receptorul pentru C_{3bi}).

Limfocitele LAK (ucigașe activate de limfokine) sunt citotoxice după ce o populație de limfocite periferice a fost activată de Il_2 (in vitro); nu sunt cu restricție CMH.

Activarea limfocitelor citotoxice

CTL-antigen specifice se găsesc sub formă de precursori; aceștia necesită diferențiere în celule citotoxice și apoi activarea citolizei.

Diferențierea se realizează prin recunoașterea antigenului prezentat cu ajutorul complexului TCR-CD_3. Ca semnale suplimentare intervin Il_1, Il_6, Il_4 și Il_2. Activarea se desfășoară în paralel cu sinteza de substanțe citolitice și proteoglicani care apar ca și granulații citoplasmatice.

Activarea citolizei este declanșată prin recunoașterea

Scanned with OKEN Scanner

antigenului prezentat. Semnalul transmis de TCR-CD_3 activează fosfolipaza C care determină creșterea nivelului Ca^{++} și activarea proteinkinazei C. Ultima va avea rol în sinteza enzimelor citolitice și de limfokine care asigură proliferarea celulară clonală (în prezența Il_2).

Mecanismul citolizei

Indiferent de tipul de celulă citotoxică acest mecanism este similar.

- eliberarea de perforine (citolizine) care se inseră în membrana celulei țintă (asemănător complexului litic al complementului);
- eliberarea de enzime (serin-esteraze);
- eliberarea proteoglicanilor cu rol de protecție față de celula citotoxică;
- producerea de IFNγ și TNF care potențează citoliza, și protejează celula citotoxică față de particulele virale eliberate de celula țintă lizată.

Desfășurarea citolizei presupune adeziunea dintre celula citotoxică și celula țintă (sărutul morții).

Citotoxicitatea intervine în mecanismele de apărare față de infecțiile cu agenți intracelulari, față de celule tumorale și în fenomenul de respingere a alogrefelor.

Scanned with OKEN Scanner

Scanned with OKEN Scanner

STĂRILE DE HIPERSENSIBILITATE

În majoritatea cazurilor răspunsul imun și imunitatea câștigată au efect benefic asupra organismului, determinând neutralizarea, eliminarea sau distrugerea antigenelor și protecția față de o nouă invadare a organismului cu aceiași antigeni.

Există însă situații în care răspunsul sistemului imun este exagerat și poate provoca manifestări locale sau generale patologice cu apariția unor leziuni mai mult sau mai puțin grave. Aceste manifestări poartă denumirea de **stări de hipersensibilitate** sau **reacții de hipersensibilitate.** Toate au ca și caracteristică comună necesitatea unei sensibilizări anterioare și se manifestă odată cu o nouă pătrundere a antigenului, sau uneori cu persistența sa; corespunde deci răspunsului imun secundar.

Gell și Coombs (1968) au clasificat reacțiile de sensibilitate în raport cu timpul scurs între noua pătrundere a Ag și apariția răspunsului însoțit de producerea de leziuni, în 4 tipuri. Ulterior s-a constatat că cele 4 tipuri se deosebesc și prin alte caracteristici.

Tip	Timp	Factori implicați	Consecințe	Manifestări (exemple)
I	minute	IgE (IgG4), mastocite, bazofile	Vasodilatație, creșterea permeabilității capilare, eozinofilie	Alergie Șoc anafilactic
II	ore (pînă la 12)	IgG, IgM, complement	cito/histoliză, anticorpi blocanți, fagocitoză	Hemopatii Endocrinopatii
III	ore (pînă la 24)	IgG, IgM	concentrație mare de complexe imune	Boala serului Glomerulonefrite Lupus eritematos
IV	ore (24-48)	limfocite T	activare limfocite și macrofage, limfokine	Tuberculoză Respingerea grefei

În patologia umană uneori pot fi implicate simultan mai multe dintre tipurile de reacții de hipersensibilitate.

Hipersensibilitatea imediată - tip I

Se caracterizează printr-o reacție acută, imediată, care nu implică în mod obligatoriu producerea de leziuni de tip inflamator. Această reacție se produce ca o consecință a legării Ag de către IgE fixate pe receptorii specifici de pe suprafața mastocitelor și a bazofilelor. Rezultatul este eliminarea de către aceste celule de mediatori biologic activi preformați și neoformați cu efecte vasoactive și chemotactice.

Reacția de hipersensibilitate imediată este în prezent denumită **alergie.** Termenul de **atopie** semnifică o stare de susceptibilitate crescută față de Ag care sensibilizează organismul. Starea atopică este legată de o serie de factori intrinseci, ceea ce conferă și un caracter familial atopiei. Se mai utilizează și termenul de **anafilaxie,** dar acesta este în prezent rezervat în special manifestărilor cu caracter de șoc generalizat, șocul anafilactic.

Antigenele generatoare de manifestări alergice sau anafilactice sunt denumite **alergene.**

Alergenele sunt substanțe extrem de variate, adesea ubiquitare, de la proteine complexe la haptene (legate de un cărăuș). Alergenele naturale sunt de fapt "mozaicuri antigenice" caracterizarea determinanților antigenici fiind foarte dificilă (ex: laptele de vacă posedă determinanți antigenici în moleculele de lactoalbumină, lactoglobulină, cazeină; s-au descris peste 50 determinanți antigenici în diferitele polenuri vegetale).

Există numeroase încercări de a clasifica alergenii, nici una însă nu este perfectă.

a) ***Pneumoalergenii*** sunt substanțe cu poartă de pătrundere căile respiratorii și în general generează manifestări bronhopulmonare. Exemple: scuame cutanate umane, fanere animale, parti-cule vegetale, acarieni microscopici (prin dejecțiile lor), lână, pene, mucegaiuri, ciuperci. Multe dintre acestea se găsesc în așa numitul *praf de casă.* Atmosfera umedă și caldă favorizează acțiunea acestor alergene. Polenul plantelor (graminee, cereale, ierburi, flori) dau de obicei reacții cu periodicitate specifică prezenței lor în atmosferă.

Scanned with OKEN Scanner

b) ***Trofoalergeni*** - au poarta de intrare tubul digestiv. Dintre acestea fac parte laptele de vacă, ouăle, peștele, adesea asociate, unele fructe, mai ales fragi, zmeură, căpșuni (ultimele prin conținutul lor în lectine sunt histaminoeliberatoare).

c) ***Substanțe diferite*** - medicamente, înțepături de insecte, seruri heterologe.

Anticorpii alergiei sunt reprezentați de **imunoglobunina E.**

La indivizii normali cantitatea de IgE în ser este de 100-200 UI/ml sânge (1UI = 2,4 ng), în timp ce la alergici cantitatea este de aproximativ 3-4 ori mai mare.

IgE se produc la locul de intrare a alergenului și în ganglionii limfatici regionali. Media duratei de viață sub formă circulantă a IgE este de 2,5 zile; fixată pe bazofile sau mastocite molecula de IgE există până la 12 săptămâni.

Controlul și reglarea producerii IgE este complexă și se realizează cu participarea limfocitelor T și B.

Alergenele sunt antigene timodependente; sunt deci prelucrate și prezentate de celulele prezentatoare de antigen (APC) *limfocitelor T*. Acestea eliberează limfokine cu acțiune asupra limfocitelor B. S-au evidențiat:

- limfokine stimulatoare - potențare (IgE - PF), glicozilate care induc sinteza de lanțuri ε în limfocitele B;
- limfokine inhibitoare - supresoare (IgE - SF) neglicozilate cu rol inhibitor asupra sintezei de lanțuri grele ε; în mod suplimentar se combină și cu Fcε al IgE circulante.

Producerea acestor limfokine la rândul lor este reglată de:

- un factor de inhibare a glicozilării (G.I.F.) produs de limfocite Ts antigen specifice;
- un factor de stimulare a glicozilării (G.E.F.).

Ambii factori sunt produși de limfocitele Th.

Limfocitele B intervin prin factori supresori (SEM) și stimulatori (EEM) produși sub influența Il_4 și a complexelor imune cu IgE.

După activare limfocitele B elimină un factor solubil sCD_{23} care inhibă producerea de IgE. În sângele periferic s-a putut evidenția și la om o corelare între cantitatea de IgE și sCD_{23}.

Scanned with OKEN Scanner

Limfocitele B au deci rol în modularea răspunsului prin IgE față de alergeni.

Il_4 stimulează, pe lângă producerea de IgE-PF și expresia receptorilor Fcε. Efectul este potențat de Il_2, Il_5, Il_6 și inhibat de INFγ, INFα, PGE_2.

În măsură mai mică intervin și IgG_4 - crescute mai ales în alergiile alimentare.

Anomaliile în reglarea producerii de IgE - caracterizează persoanele atopice și se manifestă prin:

- creșterea IgE în ser; la copiii născuți din părinți atopici apare în sângele ombilical, la copiii alergici chiar în fecale;
- creșterea numărului și activității limfocitelor B;
- creșterea limfocitelor T și B paralel cu creșterea IgE - PF;
- creșterea numărului de clone producătoare de Il_4;
- scăderea numărului limfocitelor Ts antigen specific.

Celulele implicate în alergie

a) ***Mastocitele şi bazofilele***: au o serie de asemănări din punct de vedere morfologic și funcțional sunt celule diferite.

Mastocitele sunt celule localizate în țesutul conjunctiv, adesea mai numeroase în vecinătatea vaselor mici. Apar în cursul vieții embrionare în măduva hematogenă, de unde apoi migrează în mezenchimul embrionar, fiind considerate celule migrate ale țesutului conjunctiv. Procesul de formare și migrare are loc *numai în timpul vieții embrionare*. Morfologic sunt celule rotunde sau ovale, de dimensiuni medii cu nucleu central unic: își păstrează capacitatea de proliferare prin mitoză. Caracteristica constă în prezența unui număr mare de granulații bazofile și metacromatice, care adesea maschează nucleul.

Se descriu cel puțin două tipuri de mastocite:

- **mastocitele mucoaselor** - prezente în corionul mucoaselor, au o dezvoltare dependentă de Il_3 (deci T dependente) și conțin în granulații triptază, condroitin sulfat și histamină, sunt producătoare de LTC_4 (leucotrien C_4);
- **mastocitele țesutului conjunctiv** - prezente în alte varietăți de

Scanned with OKEN Scanner

țesut conjunctiv, independente de limfocitele T. Conțin în granulații histamină, heparină, triptază și chimază; sunt producătoare de PGD_2 (prostaglandina D_2).

Bazofilele - sunt polimorfonucleare sanguine (0,5-1%în formula leucocitară) și reprezintă celula terminală în procesul granulopoiezei bazofile; nu mai au capacitate de mitoză, și o viață de câteva zile ca elemente figurante circulante. Și bazofilele posedă aceleași granulații bazofile și metacromatice, dar au un nucleu de formă neregulată. Granulațiile conțin histamină, controitin sulfat. Ambele celule conțin în granulații și factori chemotactici pentru eozinofile (ECFA) și neutrofile (NCFA).

Mastocitele și bazofilele au receptori pentru Fc al IgE.

Au fost descriși doi receptori: FcεRI și FcεRII.

FcεRI este receptorul de mare afinitate, este format din patru lanțuri polipeptidice α, β, γ (2x) și variază ca densitate între 6000-600000/celulă.

FcεRII este receptorul de mică afinitate - structura lui este incomplet elucidată - face parte din superfamilia lectinelor animale. El reprezintă markerul CD_{23}. Prin clivare generează factorul solubil sCD_3 cu rol reglator în alergie (reglarea sintezei de IgE, capacitatea de a fixa IgE). Acest receptor se găsește și pe limfocitele B și macrofage.

b) ***Alte celule implicate***

Eozinofilele: sunt polimorfonucleare sanguine (2-4% în formula leucocitară) au un nucleu bilobat și granulații eozinofile (acidofile). Reprezintă efectori secundari, care întrețin și agravează reacțiile alergice (în boli alergice apare eozinofilie în sânge).

În granulații conțin PBM (proteina bazică majoră) cu efecte toxice (asupra paraziților în parazitoze) dar și asupra altor celule sau structuri; inhibă motilitatea cililor. ECP (proteină cationică) este activator al coagulării și al sistemului kininelor. Peroxidază care prin generare de H_2O_2 induce degranularea mastocitelor și bazofilelor. Granulele mai conțin histaminază, arilsulfataza (inactivator al leucotrienelor), PGE, PGE_2 (inhibitor al histaminei), fosforilază D (inactivator al PAF).

Neutrofilele - producătoare de leucotriene, proteaze, PAF.

Scanned with OKEN Scanner

Plachetele - eliberează factorul plachetar 4, serotonină, tromboxan.

Macrofagele - eliberatoare de enzime litice; la alergici au receptori FcεII prin care în prezența IgE se activează (în special în boala astmatică).

De menționat că aceste celule sunt importante în faza tardivă a reacțiilor alergice.

Dinamica reacției alergice-de hipersensibilitate tip I.

Elementul esențial în producerea reacției alergice este degranularea mastocitelor și a bazofilelor. Procesul degranulării poate fi indus prin:

- mecanisme imune;
- mecanisme neimune.

a) ***Mecanisme imune***

Intervenția IGE. După un prim contact cu un alergen moleculele de IGE se fixează prin Fcε pe RFcεI și RFcεII. Această fixare este urmată de o aglomerare într-o zonă a membranei plasmatice a receptorilor cu IgE fixate (capping) (figura.29a și 29b).

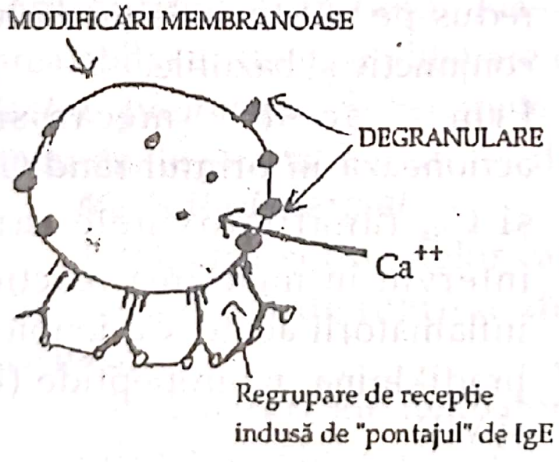


Figura 29a - Procesul de degranulare și de activare a mastocitelor

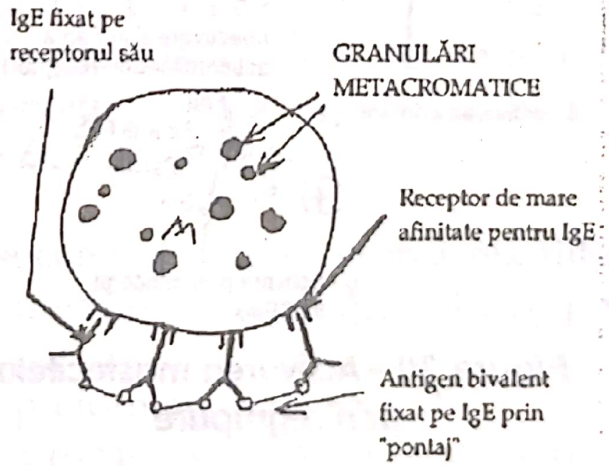


Figura 29b - Semnalul de degranulare specifică a mastocitelor

La al doilea contact cu același alergen, acesta se va lega de Fab al IgE. Pentru a se produce degranularea se impune un "pontaj" ceea ce presupune un alergen cel puțin bivalent, pentru ca un

Scanned with OKEN Scanner

epitop să fie legat de Fab al unei molecule de IgE, iar celălalt pe Fab al unei molecule vecine de IgE. Pontajul este favorizat de formarea anterioară a "capping-ului" . Celula primește astfel cel puțin două semnale, necesare declanșării unor reacții biochimice intracelulare, care au drept rezultat degranularea (figura 30).

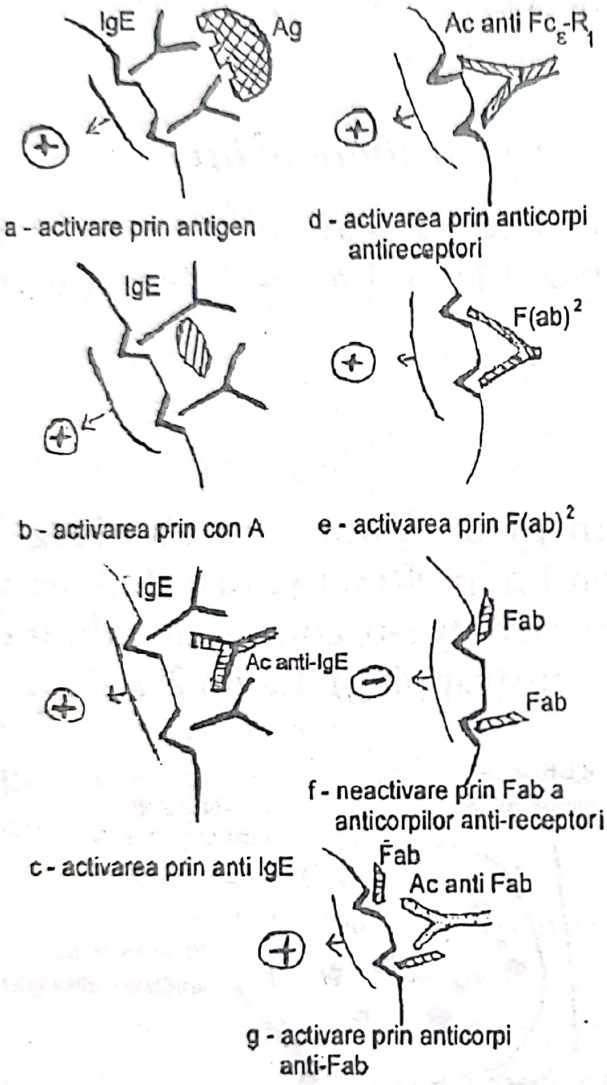


Figura 30 - Activarea mastocitelor prin regrupare

Asemănător acționează anticorpii anti IgE sau F(ab')$_2$ IgE, rea-lizând un pontaj cu două molecule de IgE fixate pe celule.

Degranularea se mai poate produce prin anticorpi RFcεI sau anti Fab al IgE. Lectinele au deasemenea efecte de degranulare.

b) ***Mecanisme nonimune*** - se manifestă asupra mastocitelor seroaselor, deloc sau foarte redus pe mastocitele țesutului conjunctiv și bazofile.

Prin acest mecanism acționează în primul rând C_{3a} și C_{5a} (anafilatoxinele care intervin în medierea reacției inflamatorii acute, Ca ionofor, bradikinina, neuropeptide (P) și VIP.

Mecanisme biochimice

Sub acțiunea semnalelor ca urmare a intervenției factorilor amintiți au loc următoarele fenomene principale:

- activarea adenil ciclazei cu producere de AMP ciclic, care la rândul lui activează proteinkinaza A (PKA);
- activarea fosfolipazei C care va acționa asupra fosfatidil

Scanned with OKEN Scanner

inozitolului difosfat (TP_2) care va genera fosfatidil-inozitol-3-fosfat (IP_3) și diacilglicerol;

- activarea metil transferazei care acționând asupra lipidelor membranare va genera fosfatidil-colina.

PKA activată eliberează Ca^{++} din reticulul endoplasmatic, IP_3 favorizează pătrunderea Ca^{++} extracelular pe calea canalelor de Ca deschise de fosfolipaza A_2 membranară. Creșterea nivelului Ca intracelular are deci două surse. Trebuie subliniat că pentru degranulare se impune un anumit nivel de Ca intracitoplasmatic. Concentrații prea mari sau prea mici inhibă degranularea.

- activarea fosfolipazei A_2 va acționa împreună cu diacilglicerolul (DAG) pentru a eli-bera acidul arahidonic din lipidele membranare. Pe calea ciclooxigenazei din acid arahidonic vor rezulta prostaglandine (PG) în principal PGD_2 și tromboxani (TxB_2) iar pe calea lipooxigenazei vor rezulta leucotriene (LTA_4, B_4, apoi LTC_4, D_4E_4).

Aceste reacții durează aproximativ 2-3 minute ceea ce explică rapiditatea cu care se instalează reacțiile alergice.

În rezumat: factorii degranulanți determină eliberarea conținutului granulelor mastocitelor și bazofilelor, stocați în prealabil; substanțele eliberate din granulații poartă denumirea de *factori preformați*. Substanțele sintetizate prin etapele biochimice menționate poartă denumirea de *factori neoformați*.

Mediatorii alergiei

Totalitatea substanțelor care concură la producerea reacțiilor alergice poartă denumirea de mediatori ai alergiei. Ei se pot clasifica:

- după natura lor: mediatori preformați și neoformați;
- după efectele pe care le produc: vaso și musculoactivi, chemotactici și enzimatici.

Histamina a fost primul mediator identificat. Histamina ia naștere din histidină sub acțiunea histidin decarboxilazei (prezentă în bazofile și mastocite). În granulații ea este legată de heparină sau condroitin sulfat. Concentrația tisulară a histaminei se corelează cu numărul mastocitelor; în sânge provine mai ales din bazofile și atinge 60 ng/ml. Catabolizarea histaminei se realizează sub

Scanned with OKEN Scanner

acțiunea histaminazei și/sau histamin-N-metil-transferazei.

Efectele histaminei se datorează legării acesteia pe receptori H_1 și H_2.

Principalele efecte sunt:

- vasodilatația și creșterea permeabilității capilare.
- bronhoconstricția:
  - directă
  - mediată prin substanța P
  - stimul vagal bronhoconstrictor prin inhibarea activității β - adrenergice
- hipersecreție
- acțiune asupra celulelor mioepiteliale
- stimul vagal.

Histamina are și efecte moderatorare:

- asupra eliberării de histamină din bazofile și mastocite
- asupra chemotactismului
- asupra limfocitelor Ts (care au receptori H_2) care elimină un factor de supresie HSF (factor de supresie histaminică); acest factor deprimă sinteza de PGE_{1-2} în macrofage și sinteza de limfokine.

Efectele moderatoare sunt mai puțin prezente la alergici.

PAF aceter - factor de agregare plachetară, este un factor neoformat din fosfatidil colină.

Principalele efecte sunt:

- vasodilatație, creșterea permeabilității capilare
- aritmie, scăderea fluxului coronarian și creșterea presiunii arteriale în mica circulație
- agregare plachetară
- activarea bazofilelor și mastocitelor
- chimiotaxie pentru neutrofile, eozinofile, macrofage.

Derivații arahidonici:

- PGD_2- vasoactiv, chemotactic, bronho-constrictor
- Tx- bronhoconstrictor, agregant plachetar
- LC- bronhoconstrictor, vasoactiv, chemotactic, stimulator al secreției.

Scanned with OKEN Scanner

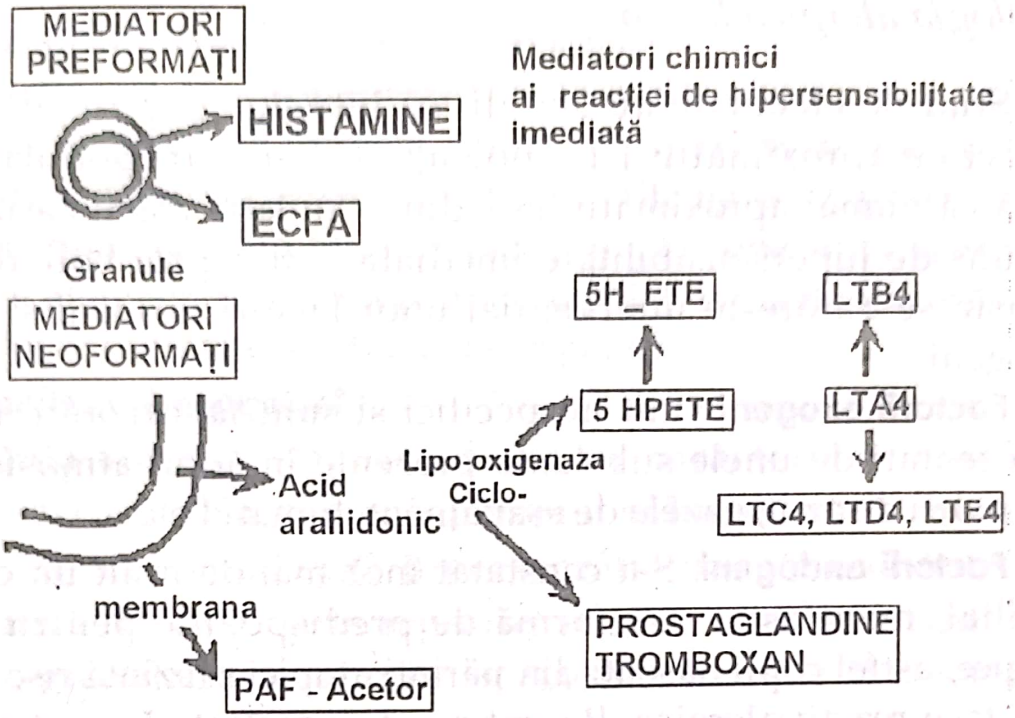


Figura 31 - **Mediatorii chimici ai reacției de hipersensibilitate imediată**

Factorii chemotactici sunt:

- ECFA (chemotactic pentru eozinofile)
- NCFA (chemotactic pentru neutrofile).

Enzime: de menționat proteaze generatoare de bradikinină.

S-a mai semnalat producerea de Il_3 și Il_6, GM-CSF (factori de stimulare a coloniilor granulocite-monocite), TNF (factor necrotic tumoral) (figura 31).

Răspunsul de fază tardivă în alergie. Reacția alergică "clasică" apare la intervale de minute după contactul cu alergenul a unui organism sensibilizat. Pe lângă aceasta poate să apară și un răspuns tardiv, cam la 6 ore. Acesta se datorează în principal leucotrienelor și mediatorilor eliminați de celulele atrase în focar (neutrofile, eozinofile, macrofage). În acest tip de răspuns la locul de pătrundere al alergenului se pot evidenția infiltrate celulare cu polimorfonucleare neutrofile și eozinofile, și cu mononucleare. Răspunsul de fază tardivă apare în general la bolnavii cu reacții alergice repetate.

Scanned with OKEN Scanner

Studiile efectuate au stabilit că întreaga populație vine în contact cu aproximativ 1 μg polen/an. Cercetări populaționale atestă că numai aproximativ 15% din populație reacționează prin răspuns de hipersensibilitate imediată, adică prin boli alergice. Aceasta se datorește intervenției unor factori exogeni și factori endogeni.

Factorii exogeni sunt nespecifici și sunt favorizanți. Ei sunt reprezentați de unele substanțe prezente în aerul atmosferic ca: SO_2, oxizii de azot, gazele de eșapament, fumatul etc.

Factorii endogeni. S-a constatat încă mai de mult un caracter familial, manifestat sub formă de predispoziție pentru reacții alergice; astfel copii născuți din părinți atopici prezintă risc crescut de a face reacții alergice. Recent s-a demonstrat că acest caracter este legat de sistemul HLA astfel indivizi din grupa Dw_2, B_8, Dw_3.

Principalele manifestări clinice

Șocul anafilactic este cea mai gravă formă clinică a hipersensibilității imediate. Apare ca o manifestare generală în urma provocării de regulă prin introducerea parenterală a alergenului față de care organismul este sensibilizat.

Principalele reacții constau în bronhospasm, vasodilatație marcată și hiperpermeabilitate capilară. Simptomatologia apare la câteva minute și se manifestă prin dispnee accentuată, erupții pruriginoase, grețuri, diarèe, colaps. Adesea simptomele premonitorii sunt înțepături la nivelul buzelor, senzația de creștere volumetrică a limbii.

Manifestări cutanate

- dermatita atopică, frecventă la copii. Mai este denumită eczema alergică. Uneori anamneza atestă caracter familial. Asocierea cu infecții repetate sugerează deficit în funcționalitatea limfocitelor T. Alergenul nu este prezentat, dar apariția dermatitei la nou născuții alimentați cu lapte de vacă, incriminează un alergen alimentar. În general se constată creșterea nivelului IgE seric, teste cutanate pozitive. Clinic se manifestă sub formă de placarde erite-

Scanned with OKEN Scanner

matoase, pruriginoase, cu caracter exfoliativ.

- urticaria se caracterizează printr-o acumulare seroasă dermică. Se poate manifesta acut prin apariția de placarde de forme, dimensiuni și localizări varibile, eritematoase, pruriginoase, ușor proeminente, fără caracter exfoliativ. De obicei nu apare faza tardivă a alergiei. Alergenul poate fi inhalat, ingerat sau de contact direct. Antihistaminicele H_1 au efecte pozitive.

Manifestări respiratorii

Rinita alergică - apare adesea cu caracter sezonier și se caracte-rizează prin edem, hiperemie și hipertermia mucoasei nazale, la care se adaugă hipersecreția nazală cu obstrucție consecutivă. Frecvent prin repetare, se instalează faza tardivă cu aflux de granulocite neutrofile, eozinofile, bazofile și macrofage. Lipsa PGD_2 atestă rolul preponderent al bazofilelor. Evoluția spre formarea de polipi este discutabilă. Apariția sezonieră sau agravarea sezonieră sugerează intervenția pneumoalergenilor. Uneori se pot dezvolta faringite, laringo-traheite.

Astmul bronșic este caracterizat prin obstrucție paroxistică a căilor respiratorii mici (bronhii, bronhiole), consecința bronhospasmului și hipersecreției. Clinic predomină dispneea mai ales cu caracter expirator. Debutează sub formă de pusee, uneori sezoniere, care se permanentizează în timp. În patologia pulmonară astmul apare ca astm atopic și astm infecțios (în care intervin alte meca-nisme etiopatogenice). În astmul atopic s-a evidențiat existența unei hiperreactivități la histamine și $PGF_{2\alpha}$.

Infecțiile virale sunt factori favorizanți; cresc permeabilitatea căilor aeriene față de pneumoalergeni; prin reflex vagal măresc reactivitatea musculaturii bronșiilor; producerea de IFN mărește eliberarea histaminei și chemotactismul pentru bazofile.

Manifestări oculare: conjunctivite, keratite, uveite, corioretinite.

Manifestări digestive: stomatite, tulburări digestive (nausee, vomă, diaree, dureri abdominale).

În mod frecvent în practica medicală se întâlnesc asocieri a diferitelor manifestări.

Scanned with OKEN Scanner

Principii de diagnostic a alergiilor.

Se bazează pe:

- date anamnestice (caracter familial, manifestări anterioare, eventual sezoniere).
- stabilirea terenului atopic (grup HLA, dozarea IGE, eozinofilia, unde este posibil bazofilia locală: secreții nazale)
- evidențiarea alergenului (reacții intradermice, teste de provocare), reacții radioimunologice care folosesc anti IgE fixate pe un substrat: RIST și PRIST/ teste radioimunabsorbante).

Reacțiile alergice trebuie deosebite de *reacțiile anafilactoide* care apar prin degranulări neimune: degranulanți chimici, anestezice, substanțe de contrast, administrate mai ales pe cale intravenoasă.

Principii de tratament

Tratamentul nu este simplu, și el trebuie individualizat la fiecare caz în parte. El poate fi farmacologic sau imunologic.

Se urmărește:

- înlăturarea alergenului; aceasta presupune cunoașterea lui și posibilitatea înlăturării , ceea ce nu este ușor de realizat.
- prevenirea eliberării mediatorilor: ex. stimularea receptorilor β-adrenergici determină un exces de AMPc care împiedică degranularea (se utilizează Izoprenalina); inhibarea fosfodiesterazei (fosfodiesteraza hidrolizează AMPc, inactivarea ei determină exces de AMPc); se utilizează teofilina.

PGE stimulează secreția de adrenalină. Inhibarea PLA_2 se realizează prin corticoterapie.

Stabilizarea membranei granulațiilor se realizeză prin cromoglicat disodic.

- administrarea diverșilor antagoniști ai mediatorilor (ex: antihistaminice)
- desensibilizarea reprezintă o imunoterapie: ea urmărește inducerea răspunsului prin IgG, stimularea răspunsului limfocitelor Ts și diminuarea răspunsului limfocitelor T_4. Practic se

Scanned with OKEN Scanner

realizează prin administrarea de doze mici, repetate, crescânde de alergeni. Presupune cunoașterea alergenului. Uneori se obțin rezultate bune, dar adesea temporare.

Hipersensibilitatea tip II (citotoxică)

Reacție de hipersensibilitate de tip II se declanșează la interval de ore (până la 12 ore) de la pătrunderea antigenului într-un organism în prealabil sensibilizat.

Antigenii sunt reprezentați de molecule constitutive ale unor suprafețe celulare sau a unor structuri extracelulare (ex. membrane bazale). În general natura antigenului poate fi:

- constitutivă, molecule proprii în cazul autoimunității;
- adsorbită, când pe molecule proprii se fixează substanțe de origine externă (ex. medicamente) care schimbă imunogenitatea moleculei.

Anticorpii care iau naștere sunt IgG (în principal IgG_1, mai rar IgG_2 și IgG_3) și IgM. Efectul fixării anticorpilor pe celule sau structuri țintă este cito sau histoliza.

Mecanismul lizei se realizează prin două căi, care pot acționa separat sau împreună.

a) Activarea complementului pe cale clasică, urmată de formarea complexului litic. Primele semne de suferință la nivelul țintei apar odată cu formarea complexului prelitic ($C_{5b,6,7,8}$), observându-se depolimerizări (fluidificări) ale membranelor celulare. Atașarea moleculei C_9 (6 molecule) induce efectul litic prin perforarea membranelor celulare; efectul este pierderea K și a proteinelor citoplasmatice și pătrunderea apei și a Na intracelular, urmată de moartea celulei.

b) Generarea de factori chemotactici (în principal C_{5a}) și opsonizarea structurilor țintă prin fixarea de imunoglobuline și fracțiuni C_{3b} și C_{3d}. Rezultatul va fi aflux de celule fagocitare, neutrofile, macrofage) care prin receptori RFc și RC vor realiza fagocitoză imună. În mod similar se poate produce citotoxicitate mediată de anticorpi prin limfocite K sau MK, posesoare ale

Scanned with OKEN Scanner

acelorași receptori.

Efectele litice se pot manifesta asupra elementelor figurate ale sângelui intravascular (prin activarea complementului) sau extravascular (fagocitoză și/sau citoliză în ficat, splină).

În unele situații (autoimunitate) se formează autoanticorpi față de molecule receptori ai celulelor (ex. celule endocrine). Acești autoanticorpi pot avea efecte stimulante (identice cu ale mesagerului natural) sau inhibante, împiedicând fixarea mesagerului natural. Se vorbește deci despre anticorpi stimulanți și anticorpi blocanți.

În concluzie, hipersensibilitatea de tip II se caracterizează prin răspuns umoral prin anticorpi, față de antigene fixate pe structuri celulare sau necelulare.

Manifestări ale hipersensibilității de tip II.

Ele pot fi grupate în 3 mari categorii: manifestări hematologice, manifestări endocrine, manifestări diverse.

Din punct de vedere etiologic aceste manifestări pot fi reacții medicamentoase și reacții nemedicamentoase (autoimune).

a) ***Reacții de hipersensibilitate tip II față de medicamente***

Manifestări hematologice. Sunt relativ frecvente și destul de ușor de diagnosticat. Tratamentul constă în eliminarea factorului etiologic (medicamentul).

1. **Anemii hemolitice** cu anticorpi antimedicament

- penicilina și cefalosporinele după utilizare îndelungată induc anemii hemolitice. Produșii de metabolism ai acestor medicamente (radicali penicliloil, radical cefalosporoil) se fixează pe hematii, inducând imunogenitate specifică. Rezultatul este producerea de anticorpi antihematii cu efecte citotoxice (prin cele două mecanisme descrise).

- α-metil DOPA, modifică imunogenitatea antigenilor Rhesus și induc formarea de anticorpi (IgM și IgG) care reacționează încrucișat cu antigenele Rhesus native. Boala apare după câteva luni de tratament.

Scanned with OKEN Scanner

2. **Trombocitopenii.** Apar după tratament cu Serdomid, chinină sau kinidină. Se manifestă prin purpură. Aceste medicamente se pot fixa pe membrana plachetelor; apar anticorpi antimedicament. Penicilina poate modifica structura antigenelor plachetare.

3. **Leucopenii.** Apar mai frecvent ca urmare a tratamentului cu fenilbutazonă sau amidopirină. Acestea se fixează pe membrana leucocitelor și induc formarea de anticorpi antimedicament.

4. **Manifestări diverse.** Penicilina și cefalosporinele pot induce nefropatii interstițiale, prin fixarea radicalilor peniciloil și cefalosporoil pe membrana bazală tubulară. Fenolftaleina se poate fixa în piele și produce eriteme pigmentate prin anticorpi antimedicament.

b) ***Reacții de hipersensibilitate tip II nemedicamentoase***

1. **Manifestări hemolitice.** Apar în cadrul aloimunizării cu aloantigene eritrocitare; cele mai frecvente manifestări se produc în cazul transfuziilor sanguine cu sânge incompatibil și în cazul aloimunizării fetomaterne.

Antigenele de grup sanguin sunt aloantigene, datorită prezenței pe eritrocite a unor molecule cu potențial imunogen, care caracterizează anumiți indivizi (un grup de indivizi) și lipsesc la alții. Se cunosc în prezent numeroase sisteme de grup sanguin; mai frecvent implicate sunt sistemele ABO și Rhesus.

Sistemul ABO a fost evidențiat de Landsteiner în 1900 care a stabilit că există 4 grupe de indivizi în raport cu antigenele eritrocitare: grupa A, B, O, AB. Autorul a mai demonstrat că există aloanticorpi în sânge și anume anti A la indivizii B, anti B la indivizii A, anti A și anti B la indivizii O și lipsa anticorpilor la indivizii AB.

Grupa	Genotip	Antigen (fenotip)	Anticorp	Frecventa în populatie
A	AA sau AO	A	anti B	45%
B	BB sau BO	B	anti A	9%
AB	AB	A și B	-	3%
O	O	-	anti A și anti B	43%

Noțiuni de genetică a sistemului ABO. Locusul ABO are 3 alele A, B și O. Fiecare individ fiind diploid poartă două alele.

Scanned with OKEN Scanner

Genele A și B sunt codominante, gena O este recesivă; astfel se realizează 6 genotipuri diferite și numai 4 fenotipuri.

Mai recent s-au evidențiat subgrupele A_1 și A_2.

Se observă că genele A și B se exprimă fenotipic prin molecule antigenice. Gena O este denumită "amorfă" neexprimând un antigen corespondent. S-a demonstrat însă că hematiile O exprimă un antigen H care poate fi recunoscut de unele antiseruri și unele lectine vegetale. S-a descris un grup Bombay (restrâns la puțini indivizi) care aparent sunt grup O, dar nu exprimă antigen H și care mai ales după transfuzii pot produce anticorpi anti H cu potențial aglutinant. Antigenul H prezent la toți indivizii (afară de grupul Bombay) este codificat de gena H care este independentă de genele A, B și O dar care este indispensabilă pentru expresia lor (figura 32).

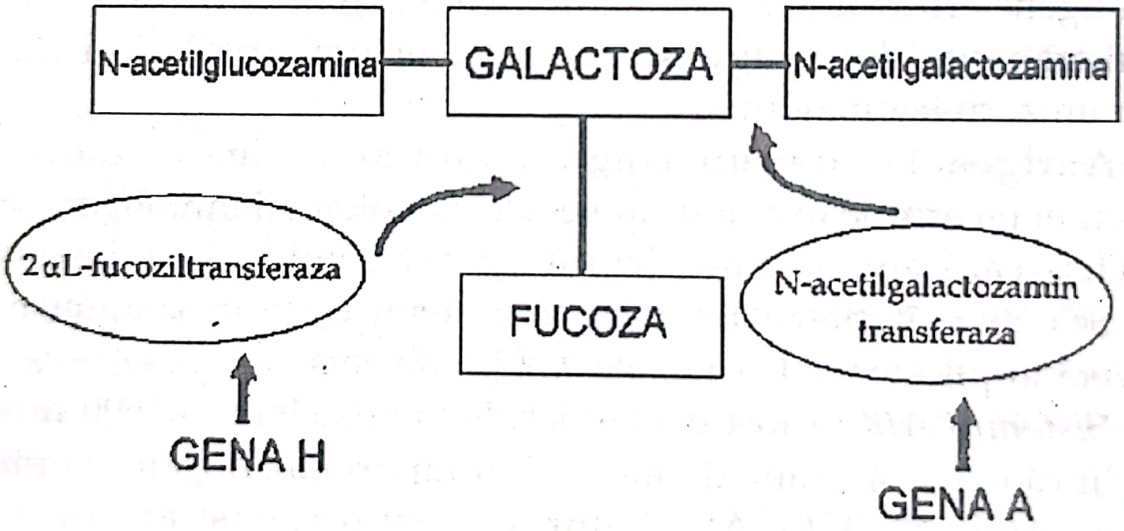


Figura 32 - **Sinteza antigenului A**

Asociate cu moleculele A, B și H s-au mai descris moleculele Lewis a (Le^a) și Lewis b (Le^b). Le^a este codificat de gena Le, independentă de genele A, B, O și H. Le^b rezultă din expresia combinată a genelor Le și H.

Moleculele aloantigenelor de grup ABO sunt glicoproteine. Au un schelet polipeptidic care conține serine și/sau tirozină. Pe resturile acestor doi aminoacizi sub acțiunea unor glicoziltransferaze se fixează lanțuri polizaharidice. Gena H

Scanned with OKEN Scanner

activată determină fixarea și pentozei la galactoza terminală a precursorului oligozaharidic. Gena A adaugă apoi N-acilgalactozamina (NAGA), iar gena B adaugă în locul NAGA, galactoza.

Astfel antigenul H conține NAG-Gal-Fuc, antigenul A

NAG-Gal-NAGA
|
Fuc

iar antigenul B,

NAG-Gal-Gal
|
Fuc

Absența genei H caracterizează grupul Bombay.

Distribuție: pe lângă hematii aloantigenele A, B, D și Le^a se găsesc prezente pe unele celule epiteliale și pe endotelii. 80% din populație elimină aloantigeni care-i caracterizează în salivă "grup secretor", restul de 20% "nesecretori" posedă în salivă numai molecula Le^a. Prezența moleculelor A, B, și O în salivă este determinată de alelele Se și Ae, independente de genele ABO. Aloanticorpii sunt prezenți independent de orice stimul antigenic formând grupul de "anticorpi naturali". Fac parte din grupa aglutininelor, sunt IgM și apar când antigenul corespondent lipsește. Deoarece structurile polizaharidice de tip A și B sunt practic ubiquitare se admite că acești anticorpi apar ca rezultat al unor stimuli antigenici bacterieni de origine alimentară.

Aloimunizarea post transfuzională

Transfuziile pot determina alosensibilizări față de antigenele de grup sanguin, antigenele HLA, markeri alotipici ai proteinelor plasmatice. În practica transfuzională, aloimunizarea post transfuzională antieritrocitară este **cea mai importantă**, de la frisoane, hipertermie, grețuri, dureri articulare până la anurie și colaps pot apare mai ales la indivizi politransfuzați sau la multipare. Aceste fenomene apar ca o consecință a hemaglutinării și hemolizei intravasculare. Pentru a evita astfel de accidente se impun măsuri riguroase:

- transfuzia să fie compatibilă în sistemul ABO, pentru a evita administrarea de eritrocite care exprimă antigene recognoscibile de

Scanned with OKEN Scanner

către anticorpii naturali ai primitorului;

- să se cerceteze compatibilitatea și pentru alte grupe sanguine (în special Rhesus);

- să se evite pe cât posibil administrarea de sânge de grup O (donator universal) deoarece în unele cazuri există titruri ridicate de anticorp anti A și anti B. Pot apare astfel accidente hemolitice mai ales la primitorii AB.

Aloimunizare fetomaternă, se datorește imunizării în cadrul sistemului Rh (Rhesus).

Sistemul Rhesus a fost definit în 1940 de Landsteiner și Wiener care au constatat că un antiser de iepure anti eritrocite de Macacus rhesus, aglutinează hematii umane la 85% din populație, care a fost denumită Rh+ sau D, restul de 15% formând grupul Rh- sau d.

Ulterior s-au evidențiat pe lângă D numeroși aloantigeni în cadrul sistemului Rhesus (aproximativ 27).

Natura acestor antigene pare a fi lipoproteică, iar expresia lor se află sub dependența a 3 locusuri, strâns legate, fiecare locus având 2 alele (Dd, Cc, Ee). Fiecare alelă determină expresia unui antigen, afară de alela d denumită amorfă. Imunogenitatea antigenelor în special D este foarte variată de la individ la individ.

În sistemul Rhesus nu există anticorpi naturali.

În practică cel mai important este antigenul D, deoarece el induce răspuns prin anticorpi anti D în proporție de 80%. Acești anticorpi sunt IgG și apar după transfuzii incompatibile sau după o sarcină în cazul în care mama este Rh- (d) iar fătul Rh+ (D). Expresia clinică a ultimei posibilități o constituie ***boala hemolitică a noului născut.***

În timpul sarcinei foarte mici cantități de sânge fetal (Rh+) trece în circulația maternă (Rh-) realizându-se microtransfuzii, care sunt însă insuficiente cantitativ pentru a produce o reacție prin anticorpi.

În timpul expulziei însă, cantitatea de sânge fetal care trece în sângele mamei este suficientă pentru a induce imunizarea (sensibilizarea) și producerea de anticorpi anti D (IgG).

Pe parcursul a celei de a doua sarcini (tot cu făt Rh+), micile cantități de hematii fetale sunt suficiente pentru a determina un

Scanned with OKEN Scanner

răspuns imun prin anticorpi (răspuns secundar - pe un organism sensibilizat). Rezultatul este producerea de anticorpi anti D (IgG) care traversează placenta datorită receptorilor Fcγ prezenți pe sincițiotrofoblast. Acești anticorpi vor recunoaște antigenele D fetale, pe care se vor fixa, determinând o reacție de hipersensibilitate tip II în organismul fetal, cu hemoliză intensă. Apare astfel anemia și hiperbilirubinemia, deoarece ficatul fetal este incapabil de a conjuga și secreta bilirubina. Bilirubina liberă în exces (circulantă) poate determina leziuni ale nucleilor cenușii cerebrali, fiind liposolubilă.

Se poate observa deci că primul născut chiar Rh+ prezintă un risc minor, care crește însă cu fiecare sarcină ulterioară cu făt Rh+. Rareori primul născut poate fi afectat; aceasta în situația în care mama a fost în prealabil sensibilizată prin transfuzie incompatibilă Rh, sau a avut avorturi anterioare primei nașteri (figura 33).

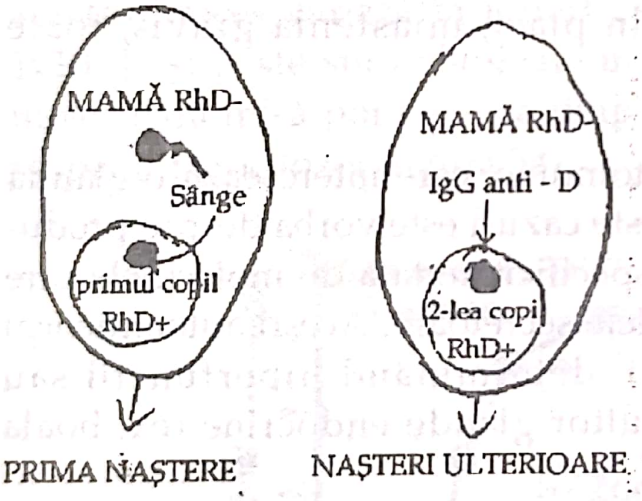


***Figura 33* - Schema bolii hemolitice a nou născutului prin incompatibilitate Rh**

Tratamentul constă în exanguino-transfuzie cu sânge compatibil.

Profilaxia este incomparabil mai eficace și se bazează pe achizițiile imunologiei. Ea constă în administrarea la mamă de ser anti D, care va recunoaște și liza hematiile fetale pătrunse în sângele matern, înainte ca acestea să determine sensibilizarea mamei și răspuns prin anticorpi.

Manifestări hemolitice sub formă de anemii mai pot apare ca boli autoimune sau în cadrul unor boli autoimune (ex. lupus eritematos sistemic).

Scanned with OKEN Scanner

2. **Granulocitopenii și trombocitopenii** pot de asemenea apărea în cadrul stărilor autoimune.

3. **Manifestări diverse**

Sindromul Goodpasture este o boală cu interesare pulmonară și renală; prin autoanticorpi antimembrană bazală. Se realizează o reacție încrucișată a autoanticorpilor față de membrana bazală glomerulară și cea alveolară pulmonară. Clinic se manifestă ca o glomerulonefrită cronică, progresivă, asociată cu pusee de pneumopatii, uneori hemoptoice.

Pemfigusul și pemfigoidul bulos - sunt boli buloase muco-cutanate care adesea afectează mucoasa bucală. Sunt boli autoimune, caracterizate prin producerea de autoanticorpi anticement intercelular epitelial (pemfigus) sau antimembrană bazală dermo-epidermică (pemfigoid). Mecanismul de hipersensibilitate de tip II mai poate fi incriminat în unele sterilități autoimune (masculine, feminine), în diabetul zaharat insulinodependent, scleroza în plăci, miastenia gravis, toate înscriindu-se ca boli autoimune.

4. Manifestări endocrine

Apar ca endocrinopatii autoimune, care interesează o glandă endocrină sau mai multe. În aceste cazuri este vorba despre producerea de autoanticorpi care au specificitate față de moleculele care reprezintă receptorii de pe celulele secretoare. Acești autoanticorpi pot fi stimulanți sau blocanți, determinând hiperfuncții sau hiperfuncția uneia sau mai multor glande endocrine (ex. boala Graves, mixedemul etc.).

Hipersensibilitatea de tip III (semitardivă, prin complex imun)

Complexele imune (CI) se formează prin combinarea unei sau unor molecule de antigen cu una sau mai multe molecule de anticorpi specifici. Formarea CI este un fenomen fiziologic care realizează neutralizarea, distrugerea și/sau eliminarea antigenelor exogene sau a autoantigenelor. Aceasta se realizează prin activarea complementului și fagocitoză.

Scanned with OKEN Scanner

În cadrul patologiei prin CI apare ca importantă *persistența* lor în circulație și/sau țesuturi determinând *reacții inflamatorii* de intensitate variabilă. Acestea se realizează printr-un *răspuns variabil* prin anticorpi asociați cu un stimul antigenic *intens sau prelungit*.

Antigenii pot proveni din:

- mediul extrinsec (exterior);
- un proces infecțios prelungit;
- mediul intern, în cazul autoimunității.

Formarea Ci se realizează deci cu un exoantigen, cu un antigen tisular, și pot apare în circulație sau la suprafața unei celule sau structuri extracelulare. Structura lor este în funcție de afinitatea și aviditatea anticorpilor, la care se adaugă legături Fc-Fc în cadrul aceluiași izotip.

Eliminarea CI se face în mod normal prin fagocitoză de către celulele Kupffer, macrofagele splenice și cele pulmonare. Durata acestui proces variază în raport cu greutatea moleculară a CI; ex. $1x10^6$ D și peste sunt eliminate în câteva minute; cele cu greutate moleculară mică pot persista timp mai îndelungat în circulație, ele scăpând fagocitozei (figura 34).

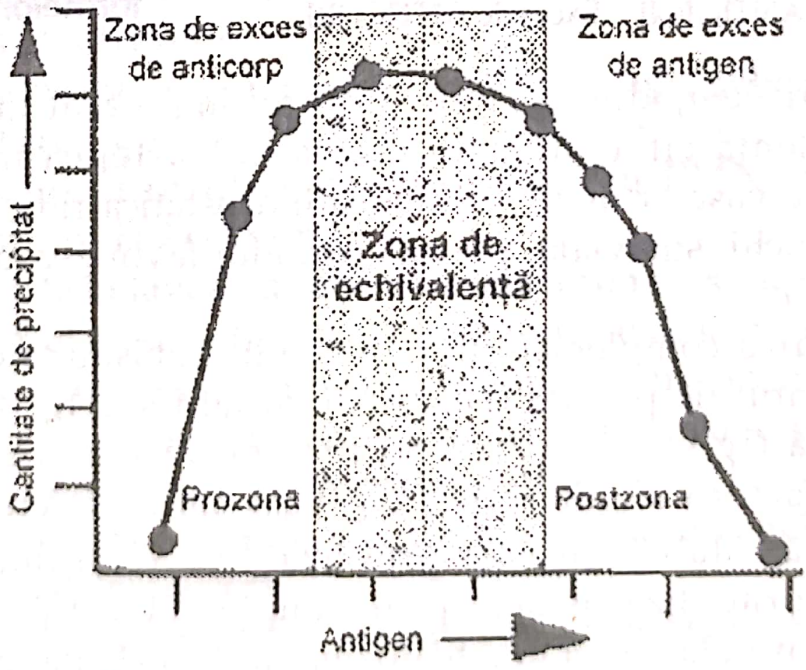


Figura 34 - Curba de precipitare AG-Ac

Scanned with OKEN Scanner

Factori de patogenitate legați de CI

Dimensiunile CI reprezintă factori esențiali în patogenitate. Acestea sunt condiționate de raportul Ag/Ac la un moment dat. În condiții de echivalență sau exces de anticorpi se formează CI de talie mare care sunt mai puțin nocivi. Dacă persistă un timp mai îndelungat astfel de complexe se pot totuși depune în țesuturi unde generează o reacție inflamatorie.

În cazul excesului de antigene se formează CI de talie mică și/sau mijlocie care circulă un timp mai îndelungat (complexe solubile), se depun extravascular (traversează membranele bazale) și deci au o patogenitate ridicată.

Afinitatea mare determină CI mari.

Alți factori ca idiotipii, antiidiotipii sau unii factori ai complementului pot mări talia CI (figura 35).

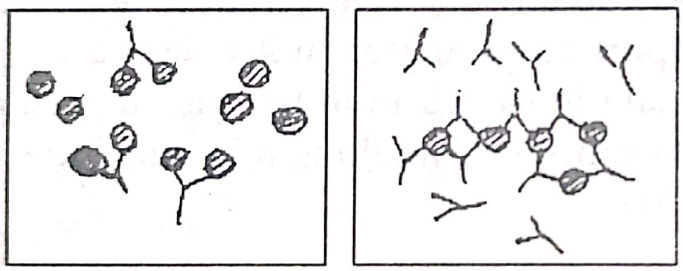


Figura 35 - Schema formelor de CI

Factorii hemodinamici joacă un rol important în depunerea CI. Turbulența circulației (formarea de vârtejuri în zonele de ramificare a vaselor mici), presiunea hidrostatică ridicată, zone de filtrare (rinichi, sinovială, plexuri coroide) favorizează depunerea tisulară a CI.

Activarea complementului. În condiții obișnuite CI activează complementul fie pe cale clasică (CI cu IgM sau IgG), fie pe cale alternativă (IgA). Activarea reprezintă un fenomen favorabil deoarece factorii rezultați (C_1, C_{3b}, C_{4b}) limitează creșterea CI și favorizează solubilizarea lor prin liză. În același timp apar însă efecte nedorite, liza tisulară prin complex litic și producerea de mediatori ai inflamației (anafilatoxine, factori chemotactici, factori vasoactivi etc.). Se realizează astfel un proces inflamator local cu efecte distructive asupra propriilor țesuturi.

Scanned with OKEN Scanner

Afinitatea unor antigene față de anumite țesuturi favorizează depunerea CI care conțin astfel de antigene (ex. ADN în cazul lupusului eritematos sistemic). Clasa și subclasa de Ig din structura CI poate favoriza depunerea (ex. șoarecii NZB/NZW au în țesuturi o densitate mare de receptori Fc ai IgG_2).

Patologia prin complexe imune

Expresii patologice prin CI pot fi produse experimental, dar ele apar și în patologia umană. Ele pot avea un caracter local sau regional și un caracter general.

a) ***Fenomenul Arthus*** reprezintă o reacție locală mediată prin hipersensibilitate de tip III, manifestată ca un proces inflamator acut.

Aspecte experimentale

Sensibilizarea (imunizarea) se obține prin administrarea repetată a aceluiași antigen în același loc (ex. subcutanat). Folosind apoi același antigen, la locul de injectare după a doua sau a treia administrare, local apare o reacție inflamatorie locală, spontan regresivă; continuând injectările reacția devine mai persistentă și capătă caracter hemoragic; după a 7-a, a 8-a injectare apare necroză, greu cicatrizabilă.

Histopatologic se constată inițial microagregate plachetare intravasculare, cu apariția de microtromboze. Urmează constituirea unui infiltrat predominent cu PMN, apoi și cu macrofage (aprox. la 24/48 ore).

Argumente în favoarea unui răspuns imun specific constau în:

- materialul infectat trebuie să aibă proprietățile unui antigen;
- reacția apare numai după reinjectarea aceluiași antigen;
- primele administrări reprezintă sensibilizarea și producerea de anticorpi specifici care pot fi evidențiați și dozați;
- în focar se pot evidenția CI prin imunofluorescență.

Mecanism de producere

După primele injectări se produc anticorpi specifici (în ganglionii limfatici aferenți) care apoi vor ajunge în circulația generală. La injectările ulterioare, intravascular se formează CI de

Scanned with OKEN Scanner

talie mare care prin activarea complementului pe cale clasică vor determina agregarea plachetară, apoi afluxul leucocitar și modificări ale permeabilității capilare (sub efectul diferitelor fracțiuni ale complementului).

b) ***Fenomenul Arthus în patologie***

Corespondentul fenomenului experimental apare în:

- injectarea repetată în aceeași zonă în cadrul tratamentelor cum ar fi insulina, ACTH, seruri xenogenice;
- vaccinări de "rapel", antidifterică, antitetanică la subiecți hiperimunizați;
- alveolita "alergică" extrinsecă, care apare la subiecți expuși în mod prelungit sau repetat în medii cu antigeni care pătrund pe cale respiratorie cum ar fi mucegaiuri vegetale (plămânii de fermier) sau pene, fecale de păsări (plămânii crescătorilor de păsări), micelii de ciuperci. Pulmonar apar episoade de alveolită (febrilă, dispneizantă, însoțită de tuse). Ulterior boala poate lua un caracter subacut, apoi cronic. Imunofluorescența pune în evidență prezența de complexe imune în septurile interalveolare; în serul bolnavilor se evidențiază nivele crescute de IgG sau IgM.

În unele cazuri se pot asocia mecanisme de hipersensibilitate de tip I și/sau de tip IV.

c) ***Boala serului acută*** apare după prima administrare a unui antigen; mai frecvent este vorba despre seruri heterologe (ser antitetanic, antidifteric etc.); mai rar boala apare după administrarea unor medicamente (sulfamide, betalactamine).

Simptomatologia apare după 5-7 zile de administrare și regresează spontan după 10-15 zile (de la administrare). Principalele simptome sunt: febră, proteinurie, erupții cutanate, artralgii, adenopatii, mai rar simptome de polinevrită, cardiopatie ischemică.

Mecanismul de producere a fost elucidat mai târziu pe modele experimentale (iepure) utilizându-se ca antigen SAB radiomarcată (^{131}I). Acest model permite stabilirea curbei de dispariție a antigenului și a apariției anticorpilor, ca și dinamica formării complexelor imune. S-a stabilit astfel că primele 5-7 zile corespund

Scanned with OKEN Scanner

perioadei de sensibilizare. Pe măsura formării anticorpilor, iau naștere complexe imune de talie mică (în exces de antigen). Aceste complexe se depun și induc leziuni similare celor din fenomenul Arthus. După a 12-15-a zi toate moleculele de antigen au fost legate astfel că urmează o creștere a anticorpilor liberi circulanți.

De importanță în inducerea bolii serului acute este antigenul care trebuie să aibă proprietatea de a rămâne timp suficient în circulație, cum sunt serum proteinele. Complexele imune circulante activează complementul, responsabil pentru creșterea permeabi-lității vasculare și implicit a depunerii complexelor imune în țesuturi. Utilizarea experimentală de antagoniști ai aminelor vasoactive ca și depleția de plachete limitează depunerea (și deci leziunile) fără a afecta producerea de complexe imune. Depunerea mai este influențată de talia complexelor imune și de încărcarea electrică a complexelor imune (complexe cationice se depun în membrane bazale care sunt anionice) (figura 36).

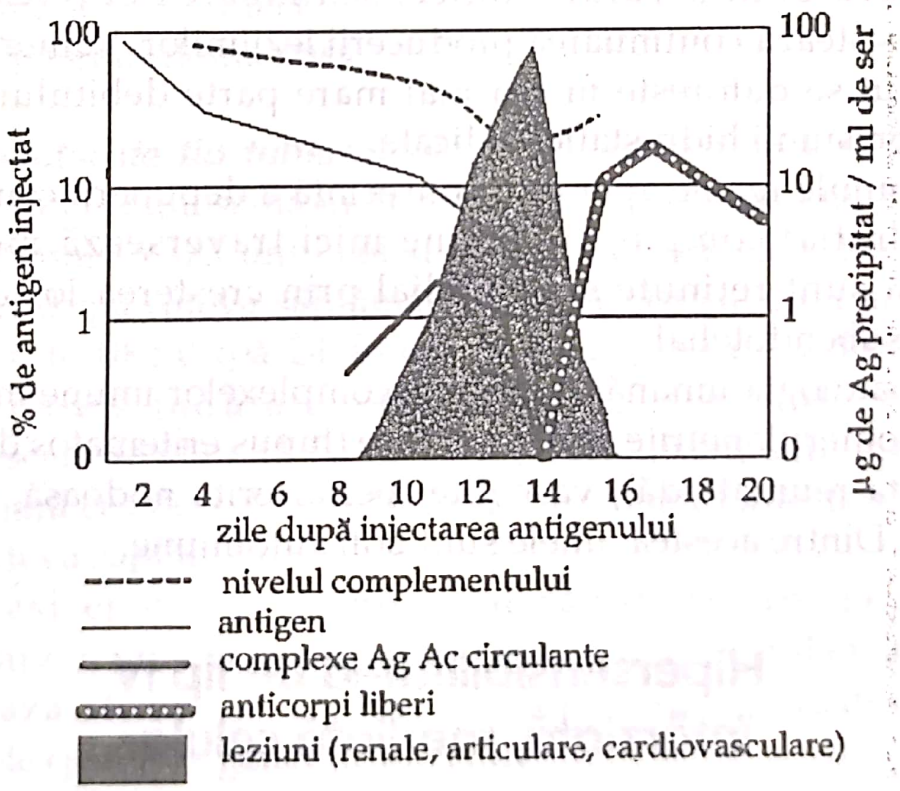


Figura 36 - **Boala serului acută experimentală**

d) ***Boala serului cronică*** se induce prin administrare repetată de cantități mici de antigen care determină formarea continuă de

Scanned with OKEN Scanner

complexe imune circulante. Cantitatea de antigen trebuie adaptată astfel ca să se mențină o situație de exces de antigen.

Experimental prin administrarea de SAB s-au putut observa 3 tipuri de răspuns:

- răspuns imun foarte intens, cu exces de anticorpi prezenți tot timpul în sânge, situație în care nu se formează complexe imune.
- lipsa de răspuns imun - ceea ce determină prezența în sânge numai de antigen, fără formare de complexe imune.
- răspuns intermediar - formare de anticorpi, dar prezența în sânge și a antigenului, cu formare de complexe imune.

Forma cronică este deci dependentă de raportul care există între cantitatea de antigen și anticorpi; imunogenitatea antigenului și numai cantitatea de anticorpi nu influențează apariția bolii.

Manifestarea clinică și substratul morfologic îl reprezintă glomerulonefrita. O dată obținută doza de antigen potrivită pentru producerea bolii serului cronice, schimbarea ei (creștere sau scădere) sistează continuarea producerii leziunilor. Vulnerabilitatea rinichiului se datorește în cea mai mare parte debitului sanguin mare și presiunii hidrostatice ridicate.

Leziunile renale apar ca o consecință a depunerii complexelor imune. Inițial complexele imune mici traversează membrana bazală și sunt reținute subepitelial prin creșterea lor ele vor fi reținute subendotelial.

În patologia umană se atribuie complexelor imune mare parte dintre glomerulonefrite, boli sistemice (lupus eritematos diseminat, poliartrita reumatoidă), vasculite (periarterita nodoasă, ca și alte angeite). Dintre acestea, unele sunt boli autoimune.

Hipersensibilitatea de tip IV întârziată, mediată celular

Hipersensibilitatea de tip IV reprezintă în fapt un răspuns patologic a răspunsului imun mediat celular, cu mecanisme identice.

Reacțiile imune mediate celular sunt necesare în apărarea organismului față de microorganisme cu dezvoltare intracelulară

Scanned with OKEN Scanner

(virusuri, micobacterii), ca și în supravegherea și apărarea antitumorală. Ele intervin și în fenomenele de respingere a alogrefelor. Se numește întârziată deoarece reacția apare la peste 24 ore de la provocare, la un organism sensibilizat anterior. În acest tip de reacție anticorpii nu intervin direct, dar pot avea unele roluri în evoluția leziunilor.

Principalele celule implicate în hipersensibilitatea întârziată sunt limfocitele T_4, T_8 și macrofagele, iar factorii umorali sunt reprezentați de citochine.

Ca forme de manifestare, HSI generează:

- reacția de tip tuberculinic (numită și "clasică"), recunoscută prima, și care a permis studiul și determinarea criteriilor caracteristice;
- reacția cutanată bazofilă, sau Jones-Mote, care apare adesea ca fază inițială în leziuni cutanate;
- dermatita de contact;
- reacția granulomatoasă.

1. ***Reacția de tip tuberculinic*** este o reacție de HSI, descrisă încă de R. Koch, cunoscută în literatură ca "fenomenul lui Koch".

Se administrează unui cobai pe cale subcutanată, bacili Koch vii (BK) iar după câteva săptămâni se administrează intradermic o nouă doză de BK; după 24-48 ore la locul celei de a doua administrări apare o induratie eritematoasă, care evoluează spre necroză; escara se elimină fără a se produce diseminare sau reacție limfatică; fără cea de a doua administrare, cobaiul infectat cu BK va muri în câteva săptămâni.

Același efect se obține și în cazul în care la a doua administrare se utilizează filtrate de BK din culturi (tuberculina).

Pe baza studiului acestor modele s-au putut determina principalele caractere generale ale HSI.

a) **Timodependența.** Imposibilitatea instaurării unui răspuns imun umoral (bursectomie neonatală, agamaglobulinemie) nu afectează HSI. Lipsa timusului (sindromul Di George, timectomie neonatală) împiedică inducerea HSI.

Scanned with OKEN Scanner

Transferul pasiv al HSI poate fi realizat numai prin limfocite T provenite de la un animal sensibilizat, dar nu se poate transfera prin ser (anticorpi).

b) **Condiții de sensibilizare**

Spre deosebire de celelalte tipuri de hipersensibilitate, în HSI nu intervin factori favorizanți sau predispozanți legați de sistemul HLA sau de particularități imunologice (cum ar fi terenul atopic în HS imediată).

c) **Natura antigenului și administratorului.** Pe baza datelor experimentale s-a demonstrat că:

- antigenii cu greutate moleculară mare sau mărită prin combinații spontane sau induse cu purtători de greutate moleculară mare pot induce răspuns mediat celular și deci HSI. Răspuns pozitiv intens se obține și cu antigeni exprimați pe membrane celulare.
- dozele potrivite sunt în general mici, utilizându-se calea intradermică.
- adjuvanții (adjuvantul Freund complet) facilitează imunizarea.

Este de reținut că endotoxinele, chiar virusurile, au acțiune similară adjuvanților. Radiațiile UV cresc imunogenitatea unor molecule exogene, chiar mici (de tip haptenă) prin facilitarea combinării lor cu molecule purtătoare proprii (ex: în dermatita de contact).

d) **Aspectele reacțiilor de HSI**

- cronologic reacția apare la aproximativ 12 ore dar atinge un maxim la *24-48 ore* - după care cedează spontan. Această reacție tardivă este însă precedată de o mai slabă reacție precoce (la câteva ore).
- se manifestă ca *eritem indurat*, uneori însoțit de mici vezicule epidermice.
- microscopic la câteva ore apare un infiltrat polimorf care conține și neutrofile și bazofile, pentru ca după 12 ore acest infiltrat să fie exclusiv mononuclear (limfocite, macrofage). Inițial infiltratul

Scanned with OKEN Scanner

este intradermic, predominent perivascular, apoi se extinde, infiltrând și epidermul. Celulele provin în primul rând din vasele sanguine, apoi proliferează și local. Limfocitele reprezintă cam 50%, majoritatea CD_4, 50% fiind macrofage. Se pot observa și puține limfocite B.

Mecanisme imunologice în reacțiile de HSI

Răspunsul sistemului imun și instalarea HSI se desfășoară în etape:

a) Etapa de sensibilizare începe după administrarea antigenului (sau a contactului cu organismul pe cale naturală) și se caracte-rizează prin transformarea blastică și expansiunea clonală a unor limfocite T_4 în țesutul limfatic locoregional (inclusiv limfoganglioni). Rezultă o populație limfocitară cu specificitate de antigen și celule cu memorie de viață lungă.

b) Declanșarea reacției cunoaște două faze:

- faza inductoare/amplificatoare inițială. Limfocitele sensibilizate recunosc antigenul prezentat (cu ocazia celei de a doua administrări) și prelucrat și ca urmare vor produce o serie de citochine ca Il_2, IFNγ, factori mitogeni și blastogeni; rezultatul este recrutarea și activarea locală a unui mare număr de limfocite T. Prin noi valori de expansiuni apar noi limfocite cu memorie dar și limfocite efectoare.

- faza efectoare este legată în principal de producerea în cantități mai mari de citochine, și recrutarea de limfocite T_8 antigen specifice. O serie de citochine (MIF, MAF) vor activa și reține pe loc macrofagele iar factorul de potențare a producerii de ROL va stimula apariția lor în focarul de acumulare a macrofagelor.

Rezultatul este distrugerea locală a antigenului, dar și producerea de alterări structurale tisulare prin enzime lizozomale eliberate extracelular, apă oxigenată, superoxizi etc. După cum se observă în esență intervin aceleași mecanisme care sunt specifice imunității mediate celular.

Controlul reacțiilor de HSI este de asemenea similar celui din imunitatea mediată celular.

Scanned with OKEN Scanner

- limfocitele T supresor sunt specifice fracțiunii purtătoare (carrier) a antigenului. Acțiunea lor se desfășoară în faza inductoare/amplificatoare (limfocite Ts_1 inductoare supresoare care prin combinare cu antigenul pot bloca interacțiunile din această fază). Limfocitele Ts_1 au și proprietatea de a activa limfocitele Ts_2 care generează factori solubili care inhibă producerea de Il_2 (sau inactivează Il_2). Apariția unor limfocite Ts cu efecte în faza de sensibilizare este incertă.

Date experimentale recente acordă importanță *rolului supresor al macrofagelor*. Administrarea de doze mari de MIF determină o diminuare marcată a reacției de HSI; explicația este stimularea producerii de către macrofage de prostaglandine, leucotriene, care determină activarea limfocitelor T_s și inhibarea generării de limfocite T efectoare. Producerea de prostaglandine este stimulată și de peroxizii produși de însăși macrofagele activate.

Polimorfonuclearele neutrofile, prin producerea de Il_1 și factori analogi, reprezintă celule cu potențial amplificator. Depleția de PMN (ser antileucocitar) determină reducerea reacțiilor HSI.

Bazofilele și mastocitele prezente în faza de debut precoce a reacției sunt responsabile de aspectele inflamatorii tranzitorii de început; histamina, PGE_2, LTB_4 eliberate de aceste celule determină activarea limfocitelor T_s.

Limfocitele B pot funcționa ca celule prezentatoare de antigen și producătoare de MAF, MIF.

2. ***Reacția bazofilă cutanată*** se caracterizează prin apariția ei după un timp ceva mai scurt de la provocare și se caracterizează printr-un infiltrat în care cam 50% sunt bazofile. Acest tip de reacții se pot induce experimental, iar în patologie se pot întâlni în debutul dermatitei de contact, peritumoral, respingerea de alogrefe.

Studii in vitro au demonstrat că limfocitele T activate eliberează substanțe ce atrag bazofile (și mastocite) la locul reacției:

- limfokine (nespecifice de antigen) cum ar fi factori de stimulare a proliferării bazofilelor, GM-CSF (factori de stimulare a coloniilor macrofagice și granulocitare), Il_3, Il_4, un factor de

Scanned with OKEN Scanner

eliberare a histaminei

- factori specifici de antigen (demonstrați la animale), care se fixează pe bazofile și mastocite, apoi leagă antigenul având efect de degranulare (similar acțiunii IgE).

3. ***Dermatita de contact*** se caracterizează la om printr-o leziune predominent epidermică (eczemă) care apare la locul de contact al antigenului, și care este maximă la 48 ore. Cei mai frecvenți antigeni, în patologia umană, au caracter de haptenă: acrilați, nichel, substanțe în compoziția unor cosmetice, cauciuc.

Sensibilizarea se realizează prin pătrunderea haptenelor transepidermic și combinarea lor nonçovalent sau covalent cu proteine proprii care funcționează ca și cărăuși. Complexul devine un imunogen T dependent.

Celulele Langerhans epidermice funcționează ca prezentatoare de antigen; ele migrează și vor sensibiliza limfocite T în ganglionii loco- regionali, care apoi la rândul lor vor migra, inclusiv în dermul pielii.

La un nou contact se produce leziunea caracterizată prin acantoliză și apariția de mici vezicule epidermice și moderat infiltrat celular dermic (inițial cu mononucleare și bazofile, apoi numai cu bazofile).

4. ***Granulomul*** este o leziune distructiv-infiltrativă care apare în unele boli cronice, pe fondul unor stări de HSI. Granulomul se datorește în cea mai mare parte persistenței agentului inițiator, iar structura microscopică și celulară variază în raport cu agentul cauzator.

Tuberculoza pulmonară este un exemplu de leziune granulomatoasă.

În mecanismul de formare rolul central revine macrofagelor și limfocitelor T. Micobacteria tuberculoasă este fagocitată de macrofagele pulmonare, dar rezistă digestiei intracelulare (bacterie facultativ intracelulară) datorită particularităților biochimice ale învelișurilor sale.

În acest fel se realizează o persistență a antigenului, prin eliminarea continuă în mediul intern de determinanți antigenici, care induc o stare de HSI. Macrofagele activate eliberează Il_1, TNF și

Scanned with OKEN Scanner

ROL (radicali oxigenați liberi) cu efecte litice asupra țesuturilor, care explică apariția necrozei cazeoase. Limfocitele T proliferează sub stimul antigenic și generează Il_2, IFNγ, MIF și factori chemotactici pentru monocite (Il_8). Parte din monocitele migrate în focar vor genera celule epitelioide care prin sinciția lizare dau naștere celulelor gigante Langerhans. Microscopic granulomul tuberculos are o zonă centrală de necroză cazeoasă, înconjurată de celule epitelioide și celule gigante iar la periferie apar limfocite T_4 și mai puține T_8.

Reacție granulomatoasă neimună apare și în prezența de corpi străini, în acest caz necroza putând să lipsească, iar infiltratul este predominent cu macrofage, celule epitelioide și celule gigante.

Scanned with OKEN Scanner

SISTEMUL LIMFATIC ATAȘAT MUCOASELOR

Aspecte generale

În cadrul sistemului imun al organismului se pot distinge:

- un sector care asigură imunitatea sistemică, având ca organe principale splina și ganglionii limfatici a căror efectori (anticorpi și celule) sunt vehiculate prin sânge și limfă;
- un sector care asigură imunitatea locală a mucoaselor și glandelor asociate, care conține celule limfatice care fac parte integrantă a acestor țesuturi și în care efectorii se formează local; pielea face parte de asemenea din cadrul acestui sector.

Judecând după dimensiunile pielii (1,70 m^2) și a mucoaselor (câteva sute de m^2) se poate aprecia importanța acestui sistem care de fapt reprezintă cam jumătate din sistemul imun al organismului.

Anticorpii imunității locale

a) IgA_s sunt anticorpii predominanți în mucoasa digestivă și respiratorie. Este o formă în primul rând dimerică stabilizată printr-o moleculă de legătură J, produse de către plasmocite și o componentă secretorie, sintetizată de epiteliul mucoaselor (vezi cap. Imunoglobuline). Stimularea sintezei de IgA_s se realizează de către antigeni locali (ex: vaccinare per os). Parte din cantitatea de IgA_s provine și printr-un circuit enterohepatic. Moleculele de IgA monomerice nu se pot combina cu piesa secretorie. Totalitatea fenomenelor biochimice (sinteza de IgA dimer, piesa J și piesa

Scanned with OKEN Scanner

secretorie) durează între 30-60'. Rolul piesei secretorii este de a face posibilă exocitoza la nivelul celulelor epiteliale și de a proteja complexul molecular IgA_s față de enzimele digestive.

Principalele acțiuni ale IgA_s sunt:

- neutralizarea bacteriilor prin inhibarea adeziunii acestora la suprafața epiteliilor;
- neutralizarea unor virusuri;
- aglutinarea bacteriilor, facilitând eliminarea lor;
- activarea complementului pe cale alternativă.

b) IgM provin fie prin transudare din circulația generală sub formă nativă fie prin sinteză locală demonstrat prin observațiile că în cazurile de deficit de IgA și IgA_s nu apar simptome în special la nivelul căilor respiratorii.

c) IgG se găsește exclusiv sub formă nativă, în cantități mai reduse, cu origine serică (prin transudare).

d) IgE apare în secreții la persoanele alergice, sub formă nativă. Rolul principal este în apărarea antiparazitară.

Celulele imunității locale

- Limfocite B și plasmocite, abundente în corionul mucoaselor (peste 300000/mm²) predominent sintetizante de IgA. Pielea umană conține foarte puține limfocite B.
- Limfocitele T apar atât în corionul mucoaselor cât și intraepitelial; în piele sunt cu mult mai puține, în special perivascular în derm.
- Macrofage numeroase în corionul mucoaselor. În piele predomină celulele dendritice Langerhans, în stratul spinos al epidermului. Rolul lor este de celule prezentatoare de Ag, producătoare de citokine reglatoare; în cursul proceselor de apărare sau hipersensibilitate au și rol efector.

Scanned with OKEN Scanner

2. Sistemul limfatic asociat tubului digestiv (GALT)

Din punct de vedere al organizării el este format din:

a) **Glandele salivare.** Există glande salivare minore (seromucoase) dispersate sau grupate în unele zone (palatină, labială) care au adenomeri acinoși cuprinși în structura corionului și/sau submucoasa bucală și glande salivare majore care formează organe constituite, delimitate de capsule conjunctive (parotide, submaxilare și sublinguale).

Toate aceste glande, dar mai ales parotida, produc cantități importante de IgA_s cu rol în menținerea echilibrului fiziologic bacterian, prevenirea cariilor dentare reprezentând o primă linie de apărare și față de antigeni alimentari și/sau bacterieni. În condiții fiziologice glandele salivare conțin puține limfocite IgA și IgM. Majoritatea Ig sunt preluate din ser, dar atașarea piesei secretorii se produce la nivelul epiteliului glandular.

b) **Amigdalele** sunt adevărate structuri limfoide formate din numeroși foliculi limfatici, acoperiți de epiteliul faringian, palatin, lingual. Ele conțin numeroase limfocite IgA, cu rol în apărarea antiinfecțioasă. Au fost descrise și celule de tip epitelial în intimă vecinătate cu limfocite T, care reprezintă probabil echivalentul periferic al celulelor "doică" timice.

c) **Mucoasa intestinală** este bogată în țesut limfatic, care realizează structuri legate între ele prin vase sanguine și limfatice.

Epiteliul mucoasei conține mai ales la nivelul vilozităților intestinale limfocite intraepiteliale. Corionul conține limfocite B, plasmocite, limfocite T, CD_4^+ și CD_8^+ ca și macrofage.

Plăcile Peyer sunt formate din aglomerări de foliculi limfatici printre care sunt fâșii de limfocite mici, localizate în corionul și submucoasa ileonului. La acest nivel vilozitățile dispar, epiteliul luând un aspect aproape linear. În zona plăcilor Peyer în cadrul epiteliului au fost descrise *celulele M* vizibile numai cu microscopul electronic. Aceste celule au un pol apical rotunjit, cu mici

Scanned with OKEN Scanner

microvilozități, iar polul bazal este adânc excavat, realizând un spațiu în care frecvent se observă 1-2 limfocite. Folosirea unor molecule trasoare electronoopace (peroxidază, feritină) au permis să se observe captarea rapidă a acestora și transferul lor spre formațiile limfoide.

Mai recent s-au evidențiat pe celulele M și antigene CMH de clasă II, fapt care le conferă și rolul de celule prezentatoare de Ag.

Structurile limfatice conțin o stromă citofibrilară cu celule prezentatoare de Ag dendritice și interdigitate, macrofage fixe și mobile.

Limfocitele T realizează zone timodependente în care se observă și venule postcapilare. Limfocitele B formează foliculi limfatici cu centrii germinativi caracteristici. Ablația plăcilor Peyer la animale de experiență împiedică complet răspunsul imun IgA față de Ag administrați pe cale orală.

Limfoganglionii mezenterici tributari nu prezintă particularități.

3. Funcțiile efectoare ale imunității mucoaselor

a) Anticorpii au în primul rând rol în apărarea antiinfecțioasă.

În agamaglobulinemii apare o susceptibilitate crescută la infecții microbiene, virale, în parazitoze și micoze (candida). Deficitul în IgA este însă în cea mai mare parte suplinit de producerea locală de IgM.

IgA are rol și în prevenirea sensibilizării pe cale digestivă față de alergeni.

b) Limfocitele T sunt indispensabile realizării unei apărări locale antiinfecțioase, antiparazitare și antimicotice. Pe de altă parte, limfocitele T pot interveni în situații patologice ca reacția grefă contra gazdă, în boala celiacă (intoleranța la gluten, în parazitoze, situații în care apare un bogat infiltrat cu limfocite T).

Scanned with OKEN Scanner

4. Migrarea limfocitelor mucoaselor

Apariția și dezvoltarea sistemului imun al mucoaselor se realizează sub stimul antigenic. Noul născut și animale axenice (născute și menținute în mediu steril) prezintă o populație limfocitară extrem de redusă. Administrarea de antigene pe cale digestivă la astfel de animale induce apariția unui număr mare de limfocite cam după 3-4 săptămâni, interval care se explică prin intervenția unui ciclu migrator limfocitar. Acest ciclu se desfășoară în etape:

- captarea antigenilor la nivelul structurilor limfatice hipoplazice urmată de activarea limfocitelor;
- expansiunea clonală tradusă prin proliferarea limfocitelor, apariția centrilor germinativ, dar lipsa plasmocitelor; se pot identifica limfocite blastice B care conțin Ig membranare dar nu intracitoplasmatice;
- migrarea limfocitelor transformate blastic spre ganglionii limfatici tributari;
- diferențierea și maturarea limfocitelor în ganglioni și apariția la acest nivel al plasmocitelor;
- popularea pe cale limfatică și sanguină a altor zone ale mucoaselor (digestivă, respiratorie) sau a unor glande (lacrimale, salivare, mamare) cu limfocite sensibilizate față de antigenul declanșant al circuitului.

În prezent, se consideră că reintrarea limfocitelor la nivelul mucoaselor se datorește unui fenomen de recunoaștere prin receptori a endoteliului vaselor mucoaselor sau glandelor și nu antigenului declanșant, așa cum s-a considerat multă vreme.

5. Relații între sistemul imun local și cel sistemic

Posibilitatea inducerii de anticorpi circulanți prin vaccinare pe cale digestivă (antipoliomielitică) atestă o strânsă relație între cele două sisteme, rezultatul fiind procesul de apărare specifică. Aceasta este consecința imunizării prin antigene complexe (bacteriene, virale).

Scanned with OKEN Scanner

Antigene simple induc însă de cele mai multe ori o toleranță sistemică dacă sunt administrate pe cale digestivă. Explicarea fenomenului implică două mecanisme posibile:

- activarea la nivelul plăcilor Peyer a limfocitelor T contrasupresor, având ca rezultat producerea de IgA_s cu rol neutralizant față de antigen;
- activarea de limfocite Ts specifice, care migrează apoi în structurile limfatice sistemice.

Acest al doilea mecanism ar avea rol protector față de acțiunea antigenelor alimentare; în același timp permite desensibilizarea față de trofoalergeni.

Scanned with OKEN Scanner

AUTOIMUNITATEA

Autoimunitatea (AU) reprezintă starea în care sistemul imun declanșează și desfășoară un răspuns față de propriile componente moleculare, rezultatul fiind producerea de efectori împotriva acestora. Fiecare organism conține molecule solubile (circulante) sau structurale care îndeplinesc toate condițiile pentru a fi imunogene. Pentru a se produce AU, generatoare de boli și leziuni, efectorii (anticorpi, celule citotoxice) trebuie să fie produși în cantități suficiente și să aibă o afinitate corespunzătoare. În condiții fiziologice, sistemul imun al unui organism **este tolerant** față de proprii antigeni. Prin această prismă AU poate fi definită ca o **ruptură a toleranței față de "propriu (self)"** rezultatul fiind un răspuns imun identic cu cel declanșat față de "nepropriu (non self)" adică față de un antigen exogen (heteroexogen). Moleculele proprii față de care apare un răspuns imun sunt denumite **autoantigeni.**

Ei pot fi:

- solubili: factori de coagulare, Ig, produși de secreție (hormoni) care circulă în umorile organismului;
- structurali: molecule de membrană (receptori), organite, componenți nucleari, sau molecule extracelulare componente ale membranei bazale, cement intercelular, colagen etc.

Rezultă că înțelegerea autoimunității presupune cunoașterea fenomenului de toleranță imunologică.

Scanned with OKEN Scanner

Toleranța imunologică

Față de un antigen exogen răspunsul normal al organismului este un răspuns imun. În unele situații însă, acest răspuns nu are loc; sistemul imun este **tolerant** (mut).

Toleranța se poate defini ca o **inhibiție activă specifică** față de un anumit antigen cu care organismul vine sau este în contact, păstrându-se integră capacitatea sistemului imun de a răspunde la oricare alt heteroantigen.

Toleranța este deci un fenomen central care se stabilește la nivelul unor celule imunocompetente. Ea trebuie diferențiată de imunodeficiență, stare în care sistemul imun are o capacitate scăzută sau nulă de a răspunde față de orice heteroantigen.

Fenomenul de toleranță a putut fi în mare parte cunoscut pe baza unor studii experimentale în special de transfer pasiv.

Inducerea toleranței a putut fi realizată experimental prin mai mulți factori:

- natura antigenului; moleculele simple cu greutate moleculară mai mică (homopolimeri) s-au dovedit a fi mai mult tolerogeni decât imunogeni;

- condițiile de administrare; calea intradermică și subcutanată sunt mai puțin imunogene, comparativ cu calea intraperitoneală și intravenoasă. Administrarea de doze mari prelungit pe cale digestivă poate induce toleranța prin producerea de IgA secretorie care la rândul ei activează limfocitul Ts specifice de antigen. Doza administrată este importantă deoarece, dozele foarte mari ca și dozele foarte mici induc toleranță;

- starea imunologică a primitorului; insuficienta maturare a sistemului imun (perioada perinatală) sau depresia acestuia favorizează inducerea toleranței.

Posibilitatea inducerii pasive a toleranței prin transfer de limfocite a demonstrat că la baza fenomenului se găsesc atât limfocitele B, cât și T. Factorii umorali (anticorpii) nu induc toleranța prin transfer.

Dozele mici de antigen determină toleranță prin limfocite T în timp ce dozele mari induc limfocite B tolerante. S-a dovedit că este

Scanned with OKEN Scanner

vorba despre limfocite T și B supresoare cu specificitate față de antigen; pentru limfocitele B mecanismul este cel de producere de anticorpi antiidiotip.

Macrofagele contribuie la menținerea toleranței prin conservarea determinanților antigenici și eliminarea de doze mici, ca și prin sinteza de prostaglandine care stimulează activarea limfocitelor T supresoare.

Toleranța față de proprii antigeni "self toleranța"

Moleculele proprii îndeplinesc toate condițiile pentru a fi imunogene, dar ele sunt tolerate de organism prin mecanisme foarte complexe, incomplet elucidate până în prezent.

Au fost emise diverse ipoteze, care nu se exclud reciproc, dar care nu explică fenomenul complex al autotoleranței.

- **Teoria clonelor eliminate** (interzise) a fost emisă de Burnet și este probabil prima. Conform acestei ipoteze clonele limfocitare care în ontogeneza lor dezvoltă receptori pentru antigenii proprii sunt eliminate (distruse) în timpul vieții fetale, datorită contactului prematur cu proprii antigeni. Studii ulterioare au demonstrat existența în condiții fiziologice a unor autoanticorpi mai ales de izotip IgM; i se atribuie un rol fiziologic în eliminarea unor produși denaturați proprii. A fost estimat că limfocite B autoreactive cam 20% din cadrul totalului de limfocite B.

Este cunoscut faptul că în corticala timusului degenerează un număr foarte mare de timocite în diferite stadii de maturare, atât CD_4 cât și CD_8. Acestea sunt timocite care își dezvoltă receptori de mare afinitate pentru antigeni proprii; cele care își dezvoltă receptori de mică afinitate, persistă, se maturează și probabil reprezintă viitoarele limfocite Ts.

- **Anergia clonală,** corespunde unei inactivări intrinseci a limfocitele T și B potențial autoreactive. Mecanismul acestei inactivări este presupus a fi agregarea receptorilor membranari pentru autoantigeni, care induce lipsa de răspuns.

- **Inhibiția clonală,** este fenomenul de inactivare prin limfocite T specific supresoare. Experimente pe șoareci nuzi au demonstrat că

Scanned with OKEN Scanner

procesul de selecție și diferențierea a limfocitelor tolerante are loc în stadiul pre-T (înaintea migrării în timus) sub influența antigenilor extratimici, care induc generarea de receptori de mică afinitate cu potențial de a deveni limfocite T supresoare.

S-a observat de asemenea că producerea de anticorpi antiidiotip față de autoanticorpi este crescută în perioada peri și neonatală.

În mod similar datelor experimentale, se presupune inducerea self-toleranței prin doze mari de autoantigeni (ex: antigeni de histocompatibilitate) sau doze mici (ex: tireoglobulina în condiții fiziologice).

Dispariția stării de self-toleranță generează apariția autoimunității care generează boli prin autoanticorpi și/sau celule autoreactive.

Mecanismele etiopatogenice care stau la baza autoimunității sunt complexe, multiple și frecvent intricate.

În mod schematic factorii implicați pot fi grupați în:

- factori predispozanți (genetici, sex, vârstă);
- factori declanșanți care acționează pe organismele cu predispoziție.

Clasificarea bolilor autoimune

Se face pe două criterii majore:

a) **În funcție de origine:**

- bolile autoimune primitive (primare): au origine în general obscură, și se caracterizează prin faptul că efectorii (autoanticorpi sau celule autoreactive) sunt direct responsabili de producerea leziunii;

- bolile autoimune secundare: procesul autoimun rezultă ca urmare a unei afecțiuni (leziuni) preexistente. Exemplul cel mai elocvent îl constituie apariția autoanticorpilor antifibră musculară cardiacă în urma unui infarct (sindromul Dressler). Eliberarea masivă de molecule imunogene rezultate din necroza fibrei miocardice provoacă ruptura toleranței fiziologice.

Scanned with OKEN Scanner

b) **În funcție de autoantigenii implicați:**

- boli autoimune organo-specifice: răspunsul imun este dirijat față de antigeni specifici unui organ; ex: tireoglobulina în glanda tiroidă, membrana bazală dermo-epidermică etc. Producerea leziunilor în această categorie se datorește reacțiilor de hipersensibilitate de tip II și de tip întârziat (tip IV);

- boli autoimune difuze (non-organospecifice); răspunsul imun este față de antigene prezente în variate țesuturi și organe larg răspândite în organism. Mai frecvent este vorba despre componente celulare de exemplu: antigene nucleare, microzomale, mitocondriale etc. În aceste cazuri leziunile se explică în majoritatea cazurilor prin reacții de hipersensibilitate de tip III (complexe imune).

Aceste două categorii de boli reprezintă de fapt doi poli ai unui spectru (tabelul de mai jos). Între acești poli existând aspecte tranzitorii și intricate.

BOLI ANATOMOIMUNE - asocierea cu sistemul HLA

1. BOLI ORGANOSPECIFICE	EXEMPLE
Tiroidita Hashimoto	DR5
Boala Graves	DR3/B8
Boala Addison	DR3
Diabet insulinodependent	DR3/DR4
Miastenia gravis	DR3
2. BOLI SISTEMICE	**EXEMPLE**
Lupus eritematos sistemic	DR3
Artrita reu,atoidă	DR4
Sindrom Goodpasture	DR2
Sindrom Sjögren	Dw3

Fenomenele autoimune apar frecvent asociate la același individ. Aceste asociații sunt mai frecvente între boli de același tip. Există numeroase cazuri de coexistență a autoanticorpilor antitiroidieni cu anticorpi anticelulă parietală gastrică. Mai frecvent se manifestă însă numai una dintre boli de exemplu: tiroidita sau

Scanned with OKEN Scanner

gastrita.

Asocieri apar și în cadrul bolilor autoimune difuze, mai puțin frecvent.

În unele cazuri cum ar fi ciroza biliară primitivă, autoanticorpii sunt de tip difuz (antimitocondriali) dar leziunea apare ca specifică de organ (ficat).

Mecanisme de producere a leziunilor

Date clinice și experimentale au demonstrat că producerea și întreținerea leziunilor are la bază mai frecvent intricarea mai multor mecanisme, deși frecvent se remarcă predominența unuia.

a) **Leziuni produse prin anticorpi:** autoanticorpii (IgG, IgM) activează complementul, opsonizează și produc leziuni de tipul citotoxicității celulare mediate prin anticorpi, sau de hipersensibilitate de tip II. Mecanismul este mai frecvent întâlnit în bolile organo-specifice (ex: hemopatii, boli mucocutanate buloase).

În unele cazuri, în care autoantigenul este reprezentat de molecule receptor, autoanticorpii pot produce stimularea celulelor țintă (ex: hipertiroidii prin anticorpi stimulanți) sau dimpotrivă produc inhibarea răspunsului celulelor țintă (ex: miastenia prin anticorpi blocanți față de receptorii pentru acetilcolină).

Intervenția directă a anticorpilor în geneza leziunilor este dovedită de posibilitatea inducerii leziunii prin transfer pasiv de ser de la animale cu autoanticorpi la animale sănătoase (ex: tiroidita experimentală), ca și prin transmiterea transplacentară a autoanticorpilor IgG de la mamă la făt (miastenia, tireotoxicoza).

În ambele situații, leziunile și manifestările clinice sunt tranzitorii, în raport cu durata de viață a anticorpilor transmiși în organismul primitorului, până la catabolizarea lor. Acest fapt dovedește că în cazul bolilor autoimune este vorba de o producere permanentă de autoanticorpi prin dereglarea funcționării sistemului imun, ceea ce nu se întâmplă la primitorii sănătoși.

b) **Leziuni produse prin complexe imune;** ele se datoresc formării și depunerii de complexe imune în diferite țesuturi. Rezultatul este activarea complementului și afluxul granulocitelor urmate de

Scanned with OKEN Scanner

distrucții celulare prin acțiunea litică a complementului și a enzimelor granulocitelor neutrofile eliberate. În unele cazuri complexele imune se pot produce "in situ" față de antigene "implantate" în unele structuri (ex: membrana bazală). Mecanismul apare și predomină în bolile autoimune difuze, autoantigenele fiind frecvent ADN, nucleoproteine etc.

c) **Leziuni produse prin reacții celulare de hipersensibilitate întârziată.** În aceste cazuri se produce sensibilizarea limfocitelor T_4, care prin producerea de limfokine, aglomerează și activează celule ale sistemului mononuclear macrofagic, limfocite T_8 citotoxice cu producerea de distrucții celulare. Aceste aspecte apar în encefalomielită, diabet juvenil insulino-dependent, unele tiroidite. S-a constatat în unele cazuri un aflux de mastocite în focarele lezionale (ex: artrita reumatoidă, uveite) ceea ce sugerează asemănări cu reacția bazofilă cutanată din hipersensibilitatea de tip IV.

Dacă patogenitatea efectorilor în autoimunitate este certă, demonstrată și directă, problema apariției rupturii toleranței fiziologice față de autoantigene este încă disputată, deși s-au acumulat numeroase date care încearcă să explice etiologia autoimunității. În această privință s-au făcut progrese prin studiul unor boli autoimune cu apariție spontană la animale și prin studiul inducerii experimentale a autoimunității la animale de laborator.

Etiopatogenia bolilor autoimune

Bolile autoimune spontane la animale

- Tiroidita la găini obeze: unele găini prezintă apariția spontană a unei hipotiroidii similară tiroiditei umane. La aceste păsări s-a evidențiat o disfuncție tiroidiană intrinsecă determinată genetic și o anomalie de imunoreglare dependentă de unele gene ale locusului B al CMH. S-a observat un deficit cantitativ și calitativ al "celulelor doică" din timus, care ar putea explica o hipofuncție a celulelor Ts. De altfel, timectomia accentuează boala, în timp ce bursectomia nu o influențează.

Scanned with OKEN Scanner

- Diabetul spontan la șobolani apare tot ca o dereglare genetic determinată prin hipofuncția celulelor Ts.

- Lupusul eritematos murin apare la unele linii de șoareci (NZB/NZW, MRL și BXBS) și este similar lupusului eritematos sistemic uman caracterizat prin anemie, glomerulonefrită, uneori fenomene articulare.

Boala apare frecvent la femele și poate fi influențată de administrarea de androgeni. Masculii castrați pot de asemenea face boala.

Ca și la specia umană, înaintea simptomatologiei clinice, apar o serie de anomalii imunologice decelabile:

- apariția anticorpilor antinucleari (ADN nativ și nucleoproteine);

- CI care conțin anticorpi antinucleari;

- activarea policlonală a limfocitelor B, consecință a deficitului funcțional a limfocitelor Ts, datorită unei involuții timice precoce și a unei hiperactivități a limfocitelor T ajutătoare (helper) cu producere importantă de interferon γ.

Boli autoimune induse experimental

Cercetarea bolilor autoimune induse experimental a permis în mare măsură să se cunoască natura antigenului declanșant ca și a efectorilor rezultați.

- Tiroidita experimentală a putut fi indusă cu tireoglobulină heterologă sau autologă asociată cu adjuvant. Leziunile tiroidei ca și simptomatologia sunt similare tiroiditei umane. Timectomia neonatală împiedică inducerea bolii experimentale. Transferul pasiv se poate realiza la animale sănătoase prin limfocite T sensibilizate.

- Glomerulonefrita se poate induce prin administrarea de extracte renale heterologe sau autologe cu adjuvant; se produc anticorpi față de antigeni de membrană bazală glomerulară. Anticorpii se depun de o manieră lineară pe membrana bazală glomerulară; leziunea poate fi indusă prin transfer pasiv de ser de la animale sensibilizate cu extracte de rinichi.

Scanned with OKEN Scanner

- Encefalomielita alergică acută experimentală (EAE) este similară sclerozei în plăci din patologia neurologică umană. Poate fi indusă prin administrarea de extracte de creier în prezența adjuvantului. S-a putut astfel dovedi că antigenul este reprezentat de proteina bazică mielinică. Aceasta determină un răspuns mediat celular; la acesta se asociază galactocerebrozide. Boala experimentală necesită administrarea repetată a ambilor antigeni. Rolul de celulă prezentatoare de antigen pare a fi jucat de astroglie și/sau endotelii.

Bolile autoimune spontane și cele induse experimental la animale au permis astfel să se contureze o serie de concepții privind etiopatogenia acestor boli în patologia umană.

Se acceptă în prezent că bolile autoimune au o origine multifactorială, schematic putându-se deosebi factori predispozanți, favorizanți, factori declanșanți. Acești factori acționează simultan, complex și se intrică.

Factori genetici predispozanți

Observațiile în patologia umană evidențiază caracterul familial al bolilor autoimune, iar cele experimentale atestă existența de linii de animale sensibile.

Factorii legați de sex apar evidenți, proporția în favoarea sexului feminin fiind întâi 5-10 la 1 comparativ cu sexul masculin. Aceasta se explică prin rolul hormonilor sexuali în răspunsul imun. Estrogenii favorizează, în timp ce androgenii diminuă riscul aparitiei autoimunității. Hormonii androgeni stimulează producerea de hormoni timici care favorizează maturarea limfocitului Ts; în același timp ei stimulează capacitatea fagocitară a macrofagelor față de complexele imune.

Factori legați de CMH (HLA la om). S-a constatat o susceptibilitate crescută pentru AI, când în genomul celulelor imunocompetente sunt prezente unele alele particulare (HLA-A_1, B_8 și în special DR_3). Pentru aceasta pledează: deficite ale sistemului complement, unii factori ai acestuia fiind codificați de gene din CMH de clasă III; acest lucru poate explica mai slaba

Scanned with OKEN Scanner

capacitate de solubilizare a complexelor imune circulante sau fixate pe receptorii Fcγ ai fagocitelor.

La găinile obeze s-au constatat gene responsabile ale dereglării mecanismelor imunoreglatoare (deficit Ts, hiperreactivitate a limfocitelor B) localizate pe locusul B al CMH. La om dereglări similare apar la indivizii $HLAB_8$ și DR_3.

Factori legați de genetica imunoglobulinelor; s-a constatat asociația dintre unele boli autoimune și unele gene care codifică sinteza regiunilor V și C a anticorpilor. La om unele alotipuri Gm (3, 5, 23) se asociază cu lupusul eritematos sistemic, hepatita cronică agresivă, poliartrita reumatoidă. Studii efectuate pe animale au demonstrat intervenția și a altor gene autosomale recesive, a căror meca-nisme de acțiune însă nu este elucidat.

Factori favorizanți

- **Vârsta.** Studii populaționale au demonstrat creșterea frecvenței bolilor AI odată cu vârsta; mai mult chiar în lipsa oricărei simptomatologii sau a unor leziuni, s-au evidențiat autoanticorpi a căror titru crește odată cu vârsta. Acest fenomen este probabil legat de involuția fiziologică a timusului, care adesea se exprimă prin anomalii de reglare imună caracterizate prin hiperreactivitatea limfocitelor B față de stimulări policlonale și reducerea activității limfocitelor Ts.

- **Virusurile** sunt incriminate ca factori favorizanți atât în modele experimentale spontane cât și în patologia umană. Mecanismul de acțiune este complex și pot fi incriminate activarea policlonală a limfocitelor B (virus Epstein Barr) ca și a limfocitelor T cu supraproducție de limfokine (IFNγ). Interferonul induce expresia antigenului de histocompatibilitate de clasă II pe celule cum ar fi timocite, astrocite care devin astfel prezentatoare de antigen (antigene virale? autoantigene?). Injectarea intratiroidiană de IFNγ induce apariția unei tiroidite, probabil prin dezechilibru funcțional între limfocitele Ts și Th.

Unele virusuri induc apariția pe membrana celulelor infectate

Scanned with OKEN Scanner

de neoantigeni de origine virală (ex: hepatita B).

- **Imunodeficiențele și limfoproliferările maligne** se însoțesc adesea de manifestări autoimune.

Factori declanșanți

În majoritatea cazurilor acești factori rămân necunoscuți dar în unele situații identificarea lor a fost posibilă.

- **Virusurile** pot fi incriminate și ca factori declanșanți în urma unor serii de observații. Prezența de anticorpi antivirali în cantități mari a fost evidențiată în LED, diabet insulino-dependent, artrita reumatoidă și sindromul Sjögren. Studii epidemiologice atestă apariția de boli AI în urma unor epidemii virale. În mod experimental se poate induce un diabet insulino-dependent prin administrarea unor tulpini virale (virusul encefalomiocarditei la șoareci).

Mecanismele incriminate sunt: apariția de neoantigene de origine virală exprimate pe membrana celulelor infectate, antigenitate încrucișată între antigene virale și autoantigene.

- **Infecțiile bacteriene și micobacteriene** pot declanșa boli AI în principal prin reacții încrucișate. Exemplul cel mai cunoscut este reumatismul articular acut ca urmare a infecției cu streptococ β hemolitic. În aproximativ 15% din cazurile de miastenie, autoanticorpii antireceptor pentru acetilcolină reacționează încrucișat cu antigeni (ex: dextran) ai membranelor bacteriene.

Autoanticorpii (antiADN, factor reumatoid) apar frecvent la bolnavi cu infecții micobacteriene; de asemenea, există antigenitate încrucișată între unele micobacterii și autoantigeni.

- **Medicamentele** pot induce unele boli autoimune. Acțiunea lor poate fi fie prin modificarea antigenelor de membrană celulară (ex: α metil DOPA modifică antigenitatea hematiilor și determină apariția unei anemii hemolitice) fie prin influențarea unor procese biochimice intracelulare (ex: hidralazina induce sinteza de autoanticorpi antinucleari, probabil prin inhibarea metilării ADN).

- **Antigenii "sechestrați"** (fibre cristaliniene, spermatozoizi) pot fi eliberați sau stimulați prin traumatisme, infecții. În acest fel, în

Scanned with OKEN Scanner

cantități mari, ei rup fenomenul de toleranță. S-a demonstrat că radiațiile UV în doze mai mari induc migrarea de ADN pe membrana cheratinocitelor, cu producerea de autoanticorpi antiADN.

În concluzie: în explicarea apariției și întreținerii AI se pot contura 4 ipoteze fundamentale care nu se exlud reciproc. Ele sunt:

- Ipoteza clonelor "interzise" - în raport cu antigenii sechestrați;
- Ipoteza reacțiilor încrucișate;
- Ipoteza anomaliilor funcțiilor reglatoare ale limfocitelor T și B;
- Ipoteza perturbării rețelei idiotip-antiidiotop.

Fiecare dintre ele nu poate explica însă complexitatea fenomenului. Este posibil și probabil că în raport cu caracteristicile perturbațiilor imunologice într-o anumită boală poate fi luată în considerare prioritar una dintre aceste ipoteze.

Scanned with OKEN Scanner

REACȚII IMUNE BUCALE

Cavitatea bucală fiind în direct contact cu mediul exterior, este colonizată cu o floră microbiană complexă. Prezența dentiției, care reprezintă o particularitate a cavității bucale față de alte cavități ale organismului, conferă o caracteristică unică și reprezintă un factor determinant în formarea și existența plăcii bacteriene.

Toate cavitățile naturale ale organismului, fiind tapetate cu țesuturi epiteliale de diferite tipuri, împiedică acumularea florei bacteriene, prin descuamarea mai mult sau mai puțin pronunțată a învelișurilor epiteliale.

Smalțul dinților reprezintă o structură acelulară dură, datorită unui înalt grad de mineralizare (97-98%), care favorizează acumularea florei bacteriene, datorită lipsei oricărei detașări de suprafață.

În general în cavitatea bucală se găsesc aproximativ 100 de bacterii pe suprafața unei celule pavimentoase din stratul superficial al mucoasei bucale. În contrast, pe suprafața smalțului se acumulează un număr mult mai mare de microorganisme, care rea-lizează pelicule, mai ales în zonele lamelelor smalțului și în vecinătatea sulcusului.

Această peliculă de microorganisme este incluzionată într-o matrice de polimeri de origine microbiană și salivară.

Multiplele cercetări efectuate până în prezent, au demonstrat că îmbolnăvirile cavității bucale sunt în strânsă corelație cu cantitatea și structura plăcii bacteriene și că sunt rezultatul unui dezechilibru ecologic la nivelul cavității bucale.

S-a stabilit că unele bacterii implicate în declanșarea și dezvoltarea unor boli, pot fi prezente și în zone fără leziuni ale

Scanned with OKEN Scanner

structurilor din cavitatea bucală.

În consecință, numeroase studii bacteriologice asupra plăcii, se referă la determinarea:

a) plăcii fiziologice (prezentă fără a determina leziuni);

b) plăcii conținătoare de bacterii oportuniste, care pot acționa ca patogene;

c) factorilor care pot determina tranziția spre proprietăți patogenice;

d) relațiilor între placa bacteriană și răspunsul gazdei.

Placa dentară

Formarea plăcii bacteriene

Cavitatea bucală a noului-născut (în absența unei infecții intrauterine) este sterilă; în primele ore însă, începe colonizarea microbiană.

Printre microorganismele care au putut fi evidențiate precoce sunt: Streptococus salivarius, Veillonela, lactobacili și Candida albicans.

În primele luni apar Actinomyces și alți anaerobi, în timp ce Streptococus sanguis și mutans pot fi evidențiați odată cu apariția dentiției deciduale.

În cavitatea bucală a nou-născutului se realizează astfel un echilibru ecologic care poate fi ușor rupt de factori nutriționali: excesul de glucide, care determină creșterea și dezvoltarea Candidei și a Streptococului mutans.

Există încă incertitudini asupra modului în care factorii de natură imunologică se interferează cu procesul colonizării microbiene a cavității bucale.

Placa bacteriană poate fi definită ca o acumularea a unui mare număr de microorganisme diferite pe suprafața smalțului. Comensalismul bacteriilor, competiția și antagonismul în cadrul acestui complex ecologic, sunt factori care determină natura și

Scanned with OKEN Scanner

proprietățile plăcii bacteriene.

În formarea plăcii bacteriene, într-o peliculă de natură glicoproteică, se fixează bacteriile anaerobe: coci și bacili Gram (+). Ulterior are loc o tranziție spre microorganismele anaerobe, fuzobacteriene (Veillonela, Actinomyces). Este posibil ca aglutininele salivare să joace un rol în agregarea bacteriană.

Placa bacteriană complet formată conține aproximativ $1,5x10^7$ organisme aerobe și $4,6x10^7$ organisme anaerobe pe mg. Întreruperea experimentală a igienei bucale poate antrena acumularea a 50 mg de placă bacteriană pe suprafața dinților.

Compoziția plăcii bacteriene

S-au stabilit trei componente funcționale ale plăcii bacteriene:

1. microorganisme cariogene, printre care cele mai importante sunt: Streptococus mutans, Lactobacillus acidophilus și Actinomyces viscosus;

2. flora microbiană implicată în producerea bolii parodontale, printre care de importanță majoră sunt: Bacteroides gingivalis și Actinobacillus (actinomycetem comitans);

3. substanțe cu potențial adjuvant și supresor: L.P.S. (lipopolizaharide), dextrani, acidul lipoteichoic. Acestea au un rol deosebit în desfășurarea răspunsului imun al gazdei față de placa bacteriană. Placa bacteriană conține 0,01% L.P.S., aproximativ 8,5% dextrani solubili, aproximativ 1,4% dextrani insolubili, 1% levan și o cantitate nedeterminată de acid lipoteichoic.

Permeabilitatea inserției epiteliale

Pentru inducerea unui răspuns imun, este necesar ca Ag să intre în contact direct cu componentele sistemului imun. În cazul cavității orale, se impune traversarea barierei morfologice reprezentate de epiteliul malpighian al mucoasei bucale și de membrana bazală pe care acesta este situat.

La nivelul joncțiunii dento epiteliale se găsește un epiteliu

Scanned with OKEN Scanner

malpighian fără cheratinizare, care s-a dovedit a fi mult mai permeabil, permițând trecerea unor molecule cu o greutate moleculară de aproximativ 700 000 daltoni. Traversarea se realizează prin spațiile intercelulare ale epiteliului-fapt demonstrat prin experimente cu colagenază, albumină și endotoxină marcate cu Tritium sau cu alte substanțe electrono-opace.

În cercetările efectuate până în prezent, am putut demonstra prin electronomicroscopie, în stadii precoce ale bolii parodontale, modificări la nivelul joncțiunilor intercelulare din stratul spinos, care pledează în favoarea creșterii permeabilității epiteliului de joncțiune.

Este de remarcat că până în prezent nu am găsit indicații bibliografice care să ateste prezența vreunui microrganism component al plăcii bacteriene în profunzimea epiteliului sau a țesutului conjunctiv gingival sau periodontal (excepție gingivita ulcero-necrotică, în care distrucțiile tisulare permit invazia bacteriană).

Indicațiile bibliografice și experiența proprie, ne conduc spre ideea că macromoleculele rezultate din metabolismul plăcii bacteriene traversează epiteliul de atașament, a cărui permeabilitate este modificată de prezența plăcii bacteriene.

Răspunsuri imunitare față de placa bacteriană

La fel ca și alte boli infecțioase, parodontopatiile reprezintă consecința interacțiunii dintre o categorie particulară de bacterii și mecanismele de apărare care li se opun.

Protecțiile fizice (bariere tisulare), biochimice (mucus, secreții, fluid gingival), mecanice (descuamare, periaj) sunt suficiente, în majoritatea cazurilor, pentru o bună apărare a organismului contra agresiunilor: viruși, bacterii etc.

În momentul în care aceste protecții sunt depășite, se poate produce o penetrare bacteriană cu mobilizarea mecanismelor de apărare, ce operează la două nivele:

- imunitatea nespecifică (naturală);
- imunitatea specifică (cu memorie).

Scanned with OKEN Scanner

Imunitatea nespecifică

Este reprezentată de un anumit număr de efectori:

- celule (fagocitare, NK)
- molecule (lizozim, complement de fază acută).

Studiile efectuate afirmă, de o manieră unanimă, rolul important al PMN în bolile parodontale. Acest fapt este susținut de următorii factori:

- prezența lor, dominantă din punct de vedere numeric, la nivelul șanțului dento gingival sănătos sau patologic
- contactul direct dintre PMN și microorganismele patogene din șanțul gingival
- asociația frecventă dintre disfuncția PMN (la subiecți afectați de o maladie sistemică) și atingeri parodontale severe.

Un PMN funcțional asigură apărarea organismului printr-un anumit număr de secvențe:

a) secvențe externe:

- chemotaxie
- adeziune nespecifică
- opsonizare specifică.

b) secvențe interne:

- fagocitoza
- explozia metabolică
- degranularea
- efectul bactericid
- digestia.

Un PMN nefuncțional poate prezenta disfuncții la mai multe nivele din cele două tipuri de secvențe.

Este indiscutabil faptul că aceste celule au un rol protector pentru parodonțiu, însă cunoștințele actuale în biochimia inflamației nu oferă suficiente date pentru a infirma o eventuală acțiune nefavorabilă a funcției PMN.

Efectul plăcii bacteriene asupra fagocitelor

După cum am amintit, vasodilatația și chemotactismul, rezultat al activării complementului, determină un aflux de

Scanned with OKEN Scanner

fagocite (polimorfonucleare neutrofile și monocite) în corionul gingival.

Lipopolizaharidele, în cantități mici (0,05 mg), pot induce o evidentă chemotaxie. Acest fenomen a fost bine studiat, atât în vivo cât și în vitro.

Menținerea fagocitelor, în special în focar, se datorează în paralel și sintezei de factor de inhibiție a migrării macrofagelor și leucocitelor, eliberat de limfocitele stimulate de către antigenii din placă.

La nivelul plăcii bacteriene există o intensă activitate fagocitară, specifică sau nespecifică, datorită prezenței de IgG care opsonizează fagocitele. Ca și în orice activitate fagocitară, opsonizarea cu fracțiunea C_{3b} a complementului, determină creșterea intensității fagocitozei.

Fagocitarea componentelor plăcii bacteriene, poate să ducă la două consecințe:

a) ingestia și liza bacteriilor și a produșilor lor, prin mecanismele oxigen-dependente și oxigen-independente ale fagocitozei;

b) prelucrarea și prezentarea antigenului, în special, de către macrofagele posesoare de antigene de histocompatibilitate de clasa II și declanșarea unui răspuns imun de către limfocitele T imunocompetente.

O serie de cercetări in vivo și in vitro au demonstrat că în special bacteriile Gram (+) din placa bacteriană, sintetizante de polizaharide extracelulare, determină o eliminare de hidrolaze lizozomale de origine leucocitară (polimorfonucleare neutrofile, monocite).

S-a evidențiat de asemenea o activare nespecifică a macrofagelor - în principal prin lipopolizaharide, manifestată prin modificări morfologice (creșterea volumului, a numărului de organite) ca și a capacității de sinteză și eliberare a unor enzime lizozomale și non-lizozomale, printre care menționăm colagenaza, cu important efect distructiv la nivelul corionului.

Scanned with OKEN Scanner

Pe baza unor cercetări asupra unor voluntari, care au acceptat să întrerupă igiena orală timp de 28 zile, s-a putut urmări în dinamică, reacția inflamatorie gingivală și răspunsul imun umoral și celular.

Acumularea plăcii gingivale și gingivita consecutivă, au fost în corelație cu o creștere a transformării blastice limfocitare și a eliberării de factor inhibitor al migrării macrofagelor (MIF).

Extracte obținute prin liza plăcii bacteriene, au demonstrat că există multipli Ag provocatori ai acestor răspunsuri. În mod surprinzător, teste cu Ac hemaglutinanți și fixatori de complement, nu au arătat o creștere a răspunsului umoral în această perioadă.

Aceste rezultate par să demonstreze că placa bacteriană, în contact cu gingia, stimulează în primul rând un răspuns mediat celular, datorită penetrării antigenului prin epiteliu și a contactului acestuia cu limfocitele prezente în corion. Lipsa unui răspuns umoral evident, s-ar putea datora și stimulării unor clone de limfocite supresoare.

Analizând acest mod de răspuns, se poate considera că pe experimentul efectuat a fost indus un răspuns imun secundar, în care s-au manifestat limfocitele T și B cu memorie - deoarece în culturi celulare, ambele tipuri de limfocite au realizat transformări blastice în prezența antigenelor plăcii.

Toate biopsiile evidențiază o creștere a numărului de limfocite și de plasmocite în inflamația gingivală persistentă; această creștere variază odată cu evoluția inflamației.

Dacă limfocitele T predomină în răspunsurile inițiale și primare, importanța lor diminuă de la leziunea stabilită spre leziunea avansată.

În leziunea avansată, se observă o predominanță plasmocitară caracteristică leziunilor distructive.

Lindhe (1982) susține că rezultatele tratamentului pot fi evaluate prin transformarea unei leziuni dominate de plasmocite, într-un situs dominat de limfocite.

Se poate afirma că o imunitate umorală predominantă,

Scanned with OKEN Scanner

exprimată prin creșterea numărului anticorpilor intra-tisulari, corespunde unei faze de progresiune a bolii, în timp ce gingivitele și/sau leziunile stabile sunt dominate de limfocite.

Răspunsuri imunitare celulare

Multiple date experimentale au demonstrat că atât limfocitele T cât și limfocitele B răspund prin transformare blastică și expansiune clonală în culturi, față de diverși factori antigenici izolați din placă: limfocitele T răspund în contact cu fracțiunile proteice, în timp ce limfocitele B răspund în contact cu lipoproteina extrasă din Veillonela.

Limfocitele sensibilizate, în contact cu factorii plăcii, reacționează prin sinteza de limfokine - factori mitogen și chemotactic sintetizați de limfocitele T, factor de activare a osteoclastelor eliberat de limfocitele B. De asemenea, s-a pus în evidență sinteza de factor de inhibare a migrării macrofagelor, de limfotoxine și un factor citotoxic prin fibroblastele gingiei.

Toți acești factori au importanță în procesul de distrucție a osului alveolar, ca și a colagenului ligamentelor parodontale.

Deși se presupune că ar exista și un mecanism de supresie față de aceste reacții distructive, acest lucru nu a fost demonstrat suficient de convingător - ceea ce impune cercetări suplimentare privind factorii activatori și inhibitori în cadrul mecanismelor celulare efectoare, specifice și nespecifice.

Mitogenele policlonale ale limfocitelor B

Un număr crescut de bacterii, prin produsele lor, sunt capabile de a determina stimularea nespecifică a limfocitelor B și implicit producerea de imunoglobuline. Printre cele mai importante sunt: lipopolizaharidele bacteriilor Gram (-), dextranii, levanii și Ag din Actinomyces viscosus.

La bolnavi cu parodontită severă, s-a putut demonstra cu ajutorul proteinei A stafilococice, o hiperreactivitate a limfocitelor B.

Scanned with OKEN Scanner

Activarea policlonală ar putea explica creșterea numărului de imunoglobuline din gingie, în cazuri de gingivită și parodontită.

În evoluția bolii parodontale, ar putea fi implicate producerea de Ac și limfocite, ca efect al activării nespecifice.

Anticorpi specifici

În serul unor subiecți martor, s-au putut evidenția IgG, IgM și IgA specifice față de majoritatea microorganismelor bucale. În același timp, nu s-a putut demonstra creșterea titrului acestor Ig serice n cazurile de boală parodontală. S-ar părea deci că este vorba de inducerea unui răspuns al gazdei prin producerea de Ac împotriva Ag microbieni.

Cu toate acestea, studii mai recente asupra Bacteroides gingivalis, cu ajutorul unor tehnici mai sensibile, au demonstrat o creștere semnificativă a IgG serice, în cazul bolnavilor cu parodontite, în comparație cu martorii.

Aceste observații susțin existența unui răspuns exagerat imun, sugerând importanța gazdei în cadrul desfășurării bolii parodontale.

În cadrul altor studii, a fost cercetată concentrația de anticorpi în fluidul gingival. Astfel, la pacienții afectați de parodontite avansate, se observă o creștere a numărului de anticorpi împotriva germenilor considerați ca patogeni, cu o specificitate echivalentă celei a anticorpilor serici.

Deoarece fluidul gingival poate fi considerat ca o diluție a serului, se vor găsi, alături de IgG, și IgA și IgM. Comparând concentrația anticorpilor serici cu cea a anticorpilor din fluidul gingival, câteodată s-a putut observa o valoare mai ridicată pentru cei din urmă. Aceasta poate fi considerată ca indicele unei producții locale de anticorpi în țesutul gingival, specifică situsului, ceea ce concordă cu faptul că plasmocitele sunt capabile să producă anticorpi în interiorul gingiei inflamate.

De fapt, o creștere a concentrației de anticorpi depinde de mai mulți parametri:

Scanned with OKEN Scanner

- capacitatea individuală de reacție;
- patogenia diferită a bacteriilor;
- variația compoziției florei bacteriene.

Inutil de spus că acești parametri variază de la un individ la altul.

Ca exemplu tip, poate fi considerat Bacteroides intermedius: această bacterie, izolată cu regularitate din leziunile active, considerată ca patogenă pentru țesuturile parodontale, stimulează foarte puțin (aproape imperceptibil) sistemul imunologic umoral.

Pe de altă parte, pentru anticorpii serici dirijați contra Aa (în parodontitele juvenile) și contra Bacteroides gingivalis (în parodontitele avansate) s-a descoperit o augmentare netă a concentrației. În aceste forme de parodontite, un tratament prin detartraj și chiuretaj al suprafețelor radiculare determină o diminuare a concentrației de anticorpi.

Chiar dacă nu este încă bine cunoscut rolul anticorpilor, este sigur că sunt integrați în lanțul mecanismelor imunologice.

Ei pot avea o influență protectoare, exemplul anticorpilor anti-leucotoxina Aa sau a anticorpilor IgA care împiedică penetrarea antigenului în epiteliu.

Pe de altă parte, aceeași anticorpi pot participa la distrucția tisulară, ca urmare a unei producții exagerate; este cazul reacțiilor de hipersensibilitate, mai ales de tip III, cu activarea complementului.

Efecte adjuvante ale plăcii bacteriene

Multiple date experimentale au evidențiat că în componența plăcii bacteriene se găsesc și factori cu rol adjuvant, cu potențial de intensificare a răspunsului limfocitar.

Acești factori, se pare că sunt lipopolizaharide cu efect mitogen policlonal, eliberate de bacterii Gram (-).

In vitro, s-a putut constata formarea de Ac anti-eritrocite de oaie prin activarea limfocitelor T_4, care prin sinteză de interleukine induc transformarea blastică, expansiunea clonală și producere de

Scanned with OKEN Scanner

plasmocite.

Mecanismele efectelor adjuvante sunt complexe; merită însă subliniate câteva elemente esențiale:

a) contactul prelungit al plăcii bacteriene cu gingia marginală determină o eliberare continuă de lipopolizahariде, dextran și levan, pe suprafața epitelială a întregii gingii;

b) lipopolizaharidele sunt agenți care induc eliberarea de enzime lizozomale de către macrofage;

c) dextranul are proprietatea de a activa complementul pe cale alternă, în situația unui mediu încărcat electric negativ.

S-a constatat în placa bacteriană, prezența de glicoproteine sulfatate, ca și de polizahariде cu încărcare negativă, produse de către Streptococus mutans și sanguis.

d) acumularea plăcii bacteriene supune gingia marginală la o concentrație crescută de Ag care stimulează recrutarea și proliferarea de celule imunocompetente, atât în infiltratul celular gingival, cât și în ganglionii de drenaj.

Efecte imunosupresoare ale plăcii bacteriene

Există date care susțin și existența unor proprietăți imunosupresive ale lipopolizaharidelor, dextranului și levanului.

Deși pare paradoxal ca aceste substanțe să fie în același timp mitogene policlonale și supresive, acest lucru se poate explica prin secvența administrării acestora în raport cu Ag. Astfel s-a demonstrat că lipopolizaharidele administrate înainte antigenului induc supresie, în timp ce administrate după antigen, cresc intensitatea răspunsului imun.

Este de menționat de asemenea că s-a demonstrat inducerea unei toleranțe de doză înaltă sau scăzută, prin administrarea de polizahariде la șoareci.

Aceste experiențe demonstrează că efectul mitogen sau supresiv este și în raport cu doza. În consecință, efectul stimulant sau supresor trebuie legat de întreaga dinamică a dezvoltării bolii parodontale.

Scanned with OKEN Scanner

Au putut fi puse în evidență și limfocite T supresor Ag-specifice, față de antigenele microbiene bucale - ceea ce sugerează rolul inducerii unei supresii active, atât în boala parodontală, cât și în caria dentară.

Efectul plăcii bacteriene asupra activării complementului

Complementul poate fi activat pe cale clasică, posibilitate demonstrată de existența complexelor imune la nivelul plăcii bacteriene; activarea se mai poate face și pe cale alternativă, în special, de către lipopolizaharide. Unele microorganisme Gram (+) (de exemplu: Streptococus mutans, sanguis, Actinomyces viscosus) pot realiza activarea pe ambele căi.

După cum se știe, prin activarea complementului și producerea anafilatoxinelor C_{3a} și C_{5a} se pune în mișcare întregul lanț de procese care conduc la apariția reacției inflamatorii de tip acut. Aceasta este declanșată de creșterea permeabilității vasculare, de efectele chemotactice, de afluxul de leucocite (în principal granulocite neutrofile); nu în ultimul rând apare agregarea plachetară cu producere de microtrombi.

Trebuie menționată și proprietatea citotoxică a C_{3a} asupra fibroblastelor, care își diminuă sau chiar pierd capacitatea de fibrilogeneză, și deci conduc la dezintegrarea progresivă a fibrelor de colagen și a ligamentelor parodontale.

În sfârșit, în special fracțiunea C_{3b} stimulează fagocitoza.

Complexul major litic, ca rezultat final, pe lîngă efectul citolitic, stimulează sinteza de prostaglandină E1, care după cum se știe, induce rezorbția osoasă. Rezorbția osoasă poate fi împiedicată cu indometacin, care blochează sinteza prostaglandinelor.

Se poate afirma că activarea complementului, pe ambele căi, se produce sub influența plăcii bacteriene și deci are rol în desfășurarea bolii parodontale, implicit în modificările colagenului și în rezorbția osoasă - cei doi factori majori care determină pierderea dentiției.

Scanned with OKEN Scanner

Antigenele HLA fiind asociate cu susceptibilitatea sau cu rezistența la boală, se poate imagina că același lucru se petrece și în cazul bolilor parodontale. Dacă acest lucru este adevărat, este de un interes crucial pentru clinician de a poseda un marker (antigenele HLA), care ar putea depista subiecții cu risc, predispuși a suferi de boli parodontale distructive.

În plus, este posibil ca antigenele HLA să aibă un rol modulator în patogenia bolilor parodontale, deoarece sistemul HLA se găsește în strânsă relație cu reglarea răspunsului imunitar.

Rezultatele asupra creșterii frecvenței antigenelor de clasă II (HLA - Dqw_1) la pacienții afectați de parodontita cu progresiune rapidă, sugerează că evoluția distrucției parodontale poate fi explicată în parte printr-o imunosupresie de natură genetică - deoarece HLA - DQ este asociat genelor de imunosupresie.

Creșterea frecvenței antigenelor de clasă I sugerează că evoluția nefavorabilă a bolii poate fi influențată de un răspuns imun neadecvat față de antigenele plăcii.

Scopul principal al cercetărilor este descoperirea unei asociații posibile între sistemul HLA și diferitele forme de boli parodontale (Blase, 1989). Până în prezent, nu se pot trage concluzii definitive privind această asociație. Este o problemă dificil de rezolvat, ținând cont de complexitatea moleculei HLA și a bolilor parodontale.

Studii efectuat pe om, maimuță și șoareci, cu ajutorul antigenului proteic al Streptococului mutans, au demonstrat o relație de reciprocitate între limfocitele T helper și T supresor. Aceste relații par să fie în raport și cu doza de Ag, dar mai ales cu prezența Ag HLA-DR.

Astfel, limfocitele Drw_6 răspund în principal prin funcție helper, în timp ce limfocitele DR_4 răspund în principal prin activitate supresivă.

Rezultă deci, că în dezvoltarea bolii parodontale și a bolii carioase, un rol important este jucat de haplotipul HLA.

Scanned with OKEN Scanner

COMPONENTE IMUNE ÎN BOLILE CAVITĂȚII BUCALE

Progresele imunologiei din ultimele decenii au condus și în stomatologie la o mai complexă și completă înțelegere a etiopatogeniei diferitelor boli cu localizare în cavitatea bucală.

Cele mai importante achiziții până în prezent se referă la leziunile ulcero-buloase ale mucoasei bucale, boala carioasă și boala parodontală. În același timp însă s-au evidențiat și manifestările bucale într-o serie de boli autoimune sau cu componente imunolo-gice importante.

Localizări bucale în boli alergice (hipersensibilitate imediată)

Angioedemul. Tipul dobândit (deosebit de forma ereditară) este o manifestare alergică locală, care interesează în principal vasele corionului mucoasei bucale (creșterea permeabilității capilare, vasodilatație) și se caracterizează prin zone eritematoase, nedureroase, care pot să se însoțească de urticarie.

Boala se datorează unor alergeni, care după o prealabilă sensibilizare a organismului, determină eliberarea de factori neoformați și preformați de către mastocite și bazofile. Activarea acestor celule poate fi determinată și de aspirină și medicamente antiinflamatoare non-steroide, care acționează asupra derivaților lipo-oxigenazei ai acidului arahidonic. Ca factori favorizanți se pot enumera temperaturi scăzute sau ridicate, eforturi fizice, traume psihice. Diagnosticul și tratamentul au ca elemente de bază cele utilizate în celelalte manifestări ale bolilor alergice.

Scanned with OKEN Scanner

Boli autoimune mucocutanate

Acest grup de boli se caracterizează prin apariția de bule cu conținut lichidian de dimensiuni variate, cu potențial de evoluție spre ulcerație. În unele cazuri sunt afectate pielea și mucoasa bucală, dar leziunile pot apare cu localizare unică, mucoasă bucală sau piele. Mai rar se pot asociaziunsau genitale.

Pemfigus vulgaris

Este o leziune inițial intraepitelială care poate îmbrăca două forme mai ales la nivel cutanat: **pemfigus vulgaris** și **pemfigus foliaceu.**

Histopatologic leziunea caracteristică este acantoliza, cu lărgirea spațiilor intercelulare în special la nivelul stratului spinos, urmată de dezorganizarea desmozomilor și o condensare a tonofibrilelor; se remarcă de asemenea scăderea glicogenului intracelular. În stadii precoce microscopia electronică a evidențiat o "topire" a cementului intercelular.

Inițial la nivelul corionului nu se remarcă modificări, sau în unele cazuri moderat infiltrat cu eozinofile. Pe măsura alterării epiteliului mucoasei începe să apară infiltrat cu neutrofile, care se accentuează odată cu apariția ulcerației.

Boala are o prevalență crescută la populația HLA-DR_4.

Imunopatologie. Pemfigusul se caracterizează prin prezența de autoanticorpi serici în același timp cu autoanticorpi fixați pe cementul intercelular al stratului spinos în special. Autoanticorpii sunt IgG și pot fi evidențiați prin imunofluorescență directă în zona de leziune și perilezional și prin imunofluorescență indirectă pe epitelii stratificate pavimentoase indemne. Acest lucru atestă faptul că autoantigenul este o moleculă prezentă în cementul intercelular sau pe membrana cheratinocitelor. Mai recent s-a putut evidenția o moleculă de adeziune Ca-dependentă de tipul *cadherinei* (130 kDa) considerată ca autoantigen. Cercetările de microscopie electronică cu autoanticorpi marcați cu peroxidază, atestă prezența acestora în spațiile intercelulare înaintea apariției

Scanned with OKEN Scanner

leziunilor de acantoliză și a modificărilor desmozomale. Mecanisme de inducere a leziunilor implică intervenția unor enzime proteolitice (eliberate de cheratinozomi) și posibil și a complementului "cu toate ca acesta din urmă nu se evidențiază în toate cazurile prin imunofluorescență".

În general nivelul seric al autoanticorpilor se corelează cu stadiul evolutiv al bolii, dar nu în toate cazurile.

Experimental, leziunea poate fi indusă la șoareci prin administrarea de IgG din serul bolnavilor. Pe aceste modele s-a putut evidenția și o creștere a nivelului de activator al plasminogenului, cu producere de plasmină ca factor proteolitic.

Etiologia bolii nu este elucidată. Unele cazuri au putut fi asociate cu utilizarea unor medicamente (penicilamină rifampicină).

Natura autoimună a bolii este susținută de unele cazuri de asociație cu miastenia gravis, timom sau LES.

Pemfigoid

Există două forme de pemfigoid; pemfigoidul bulos și pemfigoidul cicatricial. Aceste două variante se deosebesc în special prin natura autoantigenului (legat de membrana bazală a epiteliului mucoasei bucale sau a epidermului). În cadrul formelor cutanate, aproximativ 30% sunt asociate cu leziuni bucale.

Histopatologic principala caracteristică constă în desprinderea epiteliului de corion, la nivelul membranei bazale, asociată cu infiltrat leucocitar de intensitate diferită. Consecința este formarea unei bule, pe baza unor modificări subepiteliale.

Imunopatologic ambele forme se caracterizează prin prezența de imunoglobuline (mai frecvent IgG) și complement (C_3) sub formă de depozite liniare de-a lungul membranei bazale evidențiabile prin imunofluorescență directă. Microscopia electronică permite evidențierea acestora la nivelul laminei lucida.

În pemfigoidul cicatricial s-au evidențiat cu o mai mare frecvență IgM sau IgA (până la 50% din cazuri). Examinările

Scanned with OKEN Scanner

imunomorfologice evidențiază aceleași modificări și la nivelul pielii, și în zonele perilezionale, aparent indemne, atât cutanate cât și bucale.

Anticorpii circulanți sunt prezenți în majoritatea cazurilor (aprox. 70-75%) dar nivelul lor seric nu se corelează cu evoluția bolii. În cazurile de pemfigoid cicatricial, anticorpii serici apar în proporție scăzută. Prezența anticorpilor serici se poate evidenția prin imunofluorescență indirectă, folosind ca substrat mucoasă bucală (sau piele) martor (de la animal).

Antigenul declanșant al răspunsului autoimun nu este încă precizat ca structură chimică. Prezența lui în lamina lucida a membranei bazale conduce la ipoteza sintezei unei molecule modificate de către celulele stratului bazal al epiteliului malpighian, stabilit fiind faptul că lamina lucida este produsă în mod fiziologic de către aceste celule. Nu este exclusă nici ipoteza unei molecule modificate în structura hemidesmozomilor sau/și a integrinelor generate de celulele stratului bazal. În lumina acestei ipoteze se poate considera ca modificare inițială o alterare a metabolismului sintetizant al acestor celule, exteriorizarea autoantigenului și a inițierii răspunsului autoimun fiind un fenomen secundar. Apariția unor cazuri după anumite tratamente medicamentoase (ex: furosemid) pledează în acest sens.

Patogenetic, leziunile apar ca o consecință a fixării Ig pe membrana bazală, activarea consecutivă a sistemului complement, atracția granulocitelor, fenomene generatoare de leziuni locale.

Leziunile mucoasei bucale apar mai frecvent în pemfigoidul cicatricial. Acesta apare ca vezicule care ulcerează dar generează cicatrici, cu caracter recidivant. Mai rar pot apare leziuni de gingivită descuamativă, uneori cu afectarea gingiei atașate.

Diagnosticul de certitudine se poate face prin imunofluorescență directă și/sau indirectă.

Asemănătoare ca aspecte clinice și imunologic este dermatoza buloasă lineară cu IgA, care evoluează mai frecvent asociată cu conjunctivita și în rare cazuri cu leziuni buloase bucale.

Scanned with OKEN Scanner

Stomatita aftoasă recurentă

Este cea mai frecventă leziune a mucoasei bucale, care apare ca ulcerații la nivelul epiteliului fără cheratinizare. Denumirea de "recurentă" sau "recidivantă" semnifică principala caracteristică: vindecarea spontană și reapariția leziunilor. Spre deosebire de pemfigus și pemfigoid, stomatita aftoasă recurentă nu poate fi considerată o boală evident autoimună.

Ca și manifestări clinice se pot distinge: forma majoră (leziuni cu diametrul de peste 1 cm, adesea solitare, cu vindecare spontană mai târzie), forma minoră (leziuni solitare sau multiple, cu diametrul sub 1 cm, și vindecare spontană mai rapidă) și forma herpetiformă (similară gingivo-stomatitei herpetiforme, dar fără etiologie virală, ulcerații multiple, uneori confluente, dar mici de 1-2 mm diametru, cu vindecare în 2-3 săptămâni).

Sexul feminin este mai frecvent afectat. Boala are un caracter familial și apare mai frecvent în rândul populației aparținând tipului HLA-A_2 și Bw_{44}.

Etiologia bolii nu este precizată până în prezent.

Histopatologic este o leziune intraepitelială inițială, caracterizată prin acantoliză moderată, leziuni degenerative ale cheratinocitelor stratului spinos, urmate de infiltrat limfomonocitar intraepitelial. Ulterior se observă apariția unui infiltrat celular polimorf în corion. Imunocitochimia demonstrează prezența intraepitelială inițială a limfocitelor T_4 (inductoare/ajutătoare) în proporție mai mare față de T_8 (citotoxice/supresoare). Formarea ulcerației modifică raportul în favoarea T_8.

Patogenia este incomplet elucidată. Se consideră totuși că ar putea fi vorba despre un mecanism de reacție încrucișată față de un agent infecțios (neidentificat până în prezent). Serul bolnavilor conține anticorpi și limfocite citotoxice, cu specificitate față de epiteliul mucoasei bucale. Cercetări "in vitro" au identificat limfocite specific sensibilizate în sângele periferic al bolnavilor. Ca mecanism sunt incriminate: citotoxicitate mediată prin complement, citotoxicitate anticorpi-dependentă, citotoxicitate nespecifică (NK). Există argumente și în favoarea intervenției

Scanned with OKEN Scanner

mecanismelor hipersensibilității prin complexe imune.

Diagnosticul bolii este în principal clinic, pe baza aspectului lezional și caracterului recurent.

Sindromul Behçet

Descris inițial ca o triadă formată din ulcerații bucale, genitale și uveită, a fost completat ulterior în forma în care se pot asocia manifestări cutanate, artritice, vasculare gastrointestinale, neurologice.

În prezent, se consideră conturate:

- forma neurooculară;
- forma artritică;
- forma muco-cutanată.

Din punct de vedere evolutiv se evidențiază caracterul recurent. Fără a fi putut fi identificat în mod precis un agent etiologic, cercetări prin hibridizarea ADN conduc spre o etiologie virală.

Prin cercetări populaționale, s-a constatat o mai mare frecvență la persoanele $HLAB_{27}$, B_{12}.

Imunologic s-a evidențiat o dereglare a chemotaxiei PMN, creșterea nivelului IgG seric și a complexelor imune. În plus au fost evidențiate și tulburări ale complementului, cu activare pe cale clasică. Este de menționat și capacitatea proliferativă a limfocitelor priferice de la bolnavii cu sindrom Behçet în prezența mucoasei bucale fetale.

Ca și în stomatita aftoasă recurentă, boala debutează cu infiltrat leucocitar intraepitelial.

Nu s-au observat asocieri cu boli autoimune clasice.

Sindromul Sjögren

Face parte din categoria bolilor autoimune sistemice (conectivite) dar afectează cavitatea bucală, fără a fi însă o leziune proprie a mucoasei bucale. Inițial a fost descris la cazuri cu

Scanned with OKEN Scanner

fenomene artritice, însoțite de xerostomie (cavitate bucală uscată) și xeroftalmie (conjunctivită uscată). Ulterior s-au evidențiat:

- sindromul Sjögren primar denumit sindromul sec;
- sindromul Sjögren secundar - sindrom sec asociat cu LES, sclerodermie, ciroză biliară primitivă, miozită;
- sindrom Sjögren asociat cu poliartrită reumatoidă.

Din punct de vedere stomatologic apare evidentă cavitatea bucală "seacă" (lipsită de salivă) asociată cu conjunctivita uscată. În plus se remarcă o hipofuncție și la nivelul altor glande exocrine (pancreas, glande gastrice, glande endocervicale, glande cutanate) ceea ce justifică introducerea termenului de "exocrinopatie autoimună".

Histopatologic se remarcă prezența de infiltrate cu mononucleare periductale, atât în glandele salivare minore cât și în cele majore. Utilizarea markerilor au dus la evidențierea prezenței de limfocite CD_4, CD_8 și a limfocitelor B și plasmocitelor. În serul bolnavilor apare o hipergamaglobulinemie, iar în unele cazuri se remarcă limfadenopatie generalizată care poate evolua spre o limfoproliferare malignă. Dezvoltarea limfoproliferării duce la distrucția parenchimului glandelor salivare, ceea ce explică diminuarea producerii de salivă. Aspecte similare s-au remarcat și în glandele lacrimale sau alte glande endocrine. Biopsia labială permite diagnosticul.

Imunologic sindromul se caracterizează prin prezența de autoanticorpi serici, descriși sub diverse denumire: antiSjD și antiSjT, sau anti SS-A și anti SS-B. Autoanticorpi antiSS-C apar în cazuri asociate cu poliartrita reumatoidă. În multe cazuri s-a evidențiat și prezența factorului reumatoid.

Haplotipul $HLAB_8$, DR_3, Dw_{52} este prezent în majoritatea cazurilor în timp ce DR4 apare în formele asociate cu poliartrita reumatoidă. Prin imunofluorescență indirectă se pot evidenția anticorpi anti-nucleari, care s-au dovedit însă fără semnificație prognostică. Prezența ADN tip virus Epstein-Barr indică problema unei etiologii virale în inducerea autoimunității în sindromul Sjögren.

Scanned with OKEN Scanner

Limfoproliferările maligne sunt cu limfocite B, și pot fi precedate de pseudolimfoame benigne.

Bolnavii cu sindrom Sjögren au tendința de a face reacții medicamentoase negative față de penicilină și sulfamide, mai rar față de unele antihematice cum ar fi sărurile de aur sau penicilamina.

Manifestări bucale în LES

Cele mai frecvente leziuni bucale sunt ulcerațiile, care apar pe un fond eritematos, au un caracter superficial și nu determină cheratinizare ulterioară. Aceste leziuni pot uneori preceda (mai ales în lupusul eritematos discoid) leziunile cutanate ale feței.

Pentru practica stomatologică este important de a suspiciona existența unui lupus în prezența unei zone eritematoase centrată de o arie albicioasă și striuri care radiază de la marginea zonei eritematoase.

Diagnosticul diferențial trebuie făcut cu lichen planus și leucoplazia. Biopsia și examinările histo și imunopatologice pot conduce la elucidarea diagnosticului.

Scanned with OKEN Scanner

BOLI PARODONTALE

Bolile parodontale sunt reprezentate de un ansamblu de leziuni ale parodonțiului care diferă ca localizare predominentă și manifestări clinice.

Etiopatogenia acestor boli este variată și complexă, care pot fi grupați în factori infecțioși locali și factori generali.

Factorii infecțioși locali sunt reprezentați de către placa dentară, care reprezintă prin multitudinea și varietatea tipurilor de bacterii prezente principalul factor etiologic. O serie de alți factori însă pot influența efectul factorului infecțios și desfășurarea procesului patologic.

Factorii locali favorizanți sunt multipli: traumatismul ocluzal, malpozițiile, tabagismul, respirația bucală și **tartrul** dentar.

Factorii generali sunt de diferite naturi: genetici, nutriționali, endocrinieni, sanguini, farmacologici etc. Cavitatea bucală, în mod special reflectă foarte frecvent dezechilibre de origine exogenă sau endogenă și influențează efectul factorilor locali.

În general, toți acești factori sunt implicați în etuipatogenia bolii parodontale și a cariei dentare, boli specifice cavității bucale.

Placa dentară reprezintă ansamblul de microorganisme, împreună cu substratul organic de aderare la suprafața dintelui, în special în vecinătatea șanțului dentogingival. Cu toate variațiile calitative și cantitative individuale, pe pelicula salivară se colonizează și aderă în mod progresiv flora bacteriană, începând cu streptococii. În inițierea formării plăcii un rol important îl joacă glucidele pe seama cărora în special streptococul mutans și salivarius generează dextran (glucan) și mutan, elemente insolubile care asigură aderența. Odată placa formată, prezența glucidelor nu mai prezintă o necesitate absolută.

Flora microbiană a plăcii dentare poate fi împărțită în două

Scanned with OKEN Scanner

principale categorii: flora cariogenă, generatoare a unui pH acid, pe seama glicolizei și flora parodontogenă, generatoare de pH alcalin prin activitate proteolitică; această activitate generatoare de amoniac, mercaptani, hidrogen sulfurat, favorizează în mediu alcalin precipitarea unor minerale și formarea tartrului.

Enzimele și substanțele rezultate din activitatea bacteriană au rol iritativ și toxic asupra țesuturilor moi gingivale, afectând mai ales integritatea epiteliului gingival. Se produc de asemenea substanțe cu caracter imunogen care prin persistența lor pot genera reacții de hipersensibilitate cu efecte locale.

Astfel se poate aprecia importanța intervenției mecanismelor de apărare nespecifice și specifice ale organismului în cadrul verigilor etiopatogenetice ale bolii parodontale.

Clasificarea diferitelor forme anatomoclinice ale bolii parodontale a suferit modificări în timp, și este variată în funcție de diverși autori.

O clasificare mai simplă, utilă și rațională se bazează pe substratul lezional (histopatologic) în asociație cu principalul agent etiologic. Se recunosc astfel 4 forme principale:

- gingivita acută, rezultat al acțiunii diverselor bacterii;
- gingivita ulceronecrotică acută (agresivă) asociată frecvent cu spirochete;
- periodontita sau parodontopatia cronică, determinată de Bacteroides gingivalis;
- periodontita sau parodontopatia juvenilă, în majoritatea cazurilor determinată de Actinobacilus actinomicetem comitans.

Nu în toate cazurile se poate face o delimitare netă între aceste forme, existând forme intermediare, asociații sau posibilitatea de a trece dintr-o formă în alta.

Gingivita apare frecvent ca o inflamație acută gingivală de intensitate diferită, localizată la unul sau mai mulți dinți, mai rar generalizată. Această formă nu este legată în mod special de un anumit grup de microorganisme și reprezintă în fond o manifestare a reacției locale a apărării nespecifice.

Histopatologic se remarcă o vasodilatație, edem și infiltrat local cu granulocite, predominent neutrofile. De cele mai multe ori este reversibilă. Acumularea plăcii dentare este cauza principală,

Scanned with OKEN Scanner

datorită produșilor de metabolism bacterian care permeabilizează epiteliul și determină un răspuns de tip inflamator nespecific în corionul gingival. Se apreciază că numai 10-15% dintre cazuri se cronicizează, cu evoluție spre parodontopatie cronică. Episoade de gingivită acută pot apare și pe fondul unor boli generale (ex: diabet zaharat, leucemii, malnutriție, SIDA) fiind expresia bucală a scăderii capacității de apărare nespecifică a organismului.

Gingivita ulcero-necrotică se prezintă ca o gingivită acută cu debut și evoluție rapidă și se caracterizează prin apariția de mici ulcerații însoțite de necroză în special al papilelor interdentare.

Inițial boala a fost considerată ca un proces inflamator rapid progresiv cu etiologie caracteristică, datorită evidențierii de germeni fuzospirilari, spirochete și mai ales Bacteroides. În prezent este acceptat conceptul existenței unei (unor) deficiențe imunitare. Evidențierea scăderii în salivă a cantităților de IgA, IgAs și IgG indică un grad de hipogamaglobulinemie. în contrast, constatarea creșterii titrului de IgM seric este atribuită endotoxinei (activator policlonal nespecific) produsă de spirochete.

Leziunea se caracterizează printr-un aflux granulocitar cu neutrofile în vecinătatea bacteriilor care pot fi evidențiate și intraepitelial; în aceste zone se observă că stratul bazal rămâne intact, chiar dacă se produc ulcerații, distrucția epiteliului fiind atribuită eliberării de către neutrofile a enzimelor litice lizozomale.

În mecanismul lezional au fost incriminați și factori legați de leucocite, în special deficiențe în mecanismele de fagocitoză. Pe lângă acestea a fost emisă și ipoteza că acest tip de gingivită ar reprezenta o manifestare locală a reacției Schwartzman la bacterii gram negative.

Parodontita (periodontita) cronică denumită și parodontopatie cronică reprezintă o formă prelungită, cu evoluție progresivă, uneori în pusee evolutive, întreruptă de perioade de remisiune. Leziunea afectează toate componentele parodonțiului, are un caracter distructiv, alterarea ligamentelor, rezorbție osoasă, rezultatul final fiind pierderea dintelui.

Clinic au fost descrise forme lent progresive și forme rapid progresive.

Cele mai frecvente cazuri apar după pubertate, la vârsta

Scanned with OKEN Scanner

adultă, determinând adevărate "infirmități" dentare.

Și în această formă placa dentară și bacteriană reprezintă factorul etiologic major; cercetările bacteriologice au putut evidenția prezența în placă a unei flore bacteriene de tip parodontogen, cu unele particularități în formele lent progresive, respectiv rapid progresive.

Forme lent progresive	Forme rapid progresive
Bacteroides intermedius	Fusobacterium nucleatum
Eikenella corodeus	B. gingivalis
Fusobacterium nucleatum	Wolinella recta
Actinomices	Peptostreptococus

Datele epidemiologice evidențiază o singură corelație, între placa dentară și vârstă (Nu apar corelații privind nivelul cultural, socio-economic, de sex etc.)

Boala poate afecta zone limitate la 1-3 dinți, sau poate fi extinsă la întreaga dantură.

Fiind vorba despre o îmbolnăvire cronică se impune cunoașterea interacțiunilor între agenții etiologici (bacteriile plăcii) și reacția individuală a gazdei. În cadrul acestei interacțiuni un rol important îl joacă mecanismele imunologice implicate.

Particularitatea bolii constă în faptul că nu au putut fi evidențiate prin nici o metodă bacterii în țesuturile lezate, fapt care sugerează intervenția mecanismelor imunologice față de *antigene bacteriene*, solubile, care pot traversa bariere naturale de apărare, pentru a induce un răspuns imun.

Leziuni caracteristice bolii parodontale. Examinări histopatologice ale țesuturilor parodontale în dinamica desfășurării lor au permis evidențierea unor etape evolutive cu caracteristici proprii.

Leziunea inițială: are caracterele anatomoclinice ale gingivitei acute cu edem, vasodilatație și infiltrat celular cu granulocite neutrofile. În mecanismul acestei etape intervine activarea complementului, inițial pe cale alternativă, apoi pe cale clasică, datorită apariției în ser a Ig față de diferiți antigeni bacterieni, componente ale plăcii. Experimental, ca și pe subiecți voluntari, s-a

Scanned with OKEN Scanner

demonstrat că această leziune apare la 2-4 zile după dezvoltarea plăcii (prin neîndepărtarea ei zilnică). Este foarte posibil ca acele gingivite acute care se cronicizează să reprezinte de fapt etapa inițială a bolii parodontale.

Leziunea precoce se caracterizează prin înlocuirea granulocitelor neutrofile prin limfocite și macrofage, rar plasmocite. Fenotiparea limfocitelor atestă o predominență a limfocitelor T. Această etapă are încă, parțial, un caracter reversibil.

Leziunea stabilizată evidențiază o netă predominență a plasmocitelor sintetizante de IgA. Aceste celule apar local, în corionul gingival ca urmare a acumulării de limfocite B în finalul etapei leziunii precoce, sub influența antigenelor plăcii dentare. În paralel, șanțul dento-gingival se adâncește datorită avansării epiteliului în sens radicular pe suprafața dintelui; se inițiază astfel formarea pungilor parodontale și degradarea colagenului. În ser se pot decela limfocite sensibilizate față de antigenele bacteriene ale plăcii dentare (flora parodontogenă). Leziunea se constituie în 2-3 săptămâni de la dezvoltarea plăcii și are caracter de stabilitate (ireversibilitate spontană).

Leziunea avansată se caracterizează prin infiltrat polimorf (limfocite, plasmocite, macrofage), modificări destructive ale periodontului (în special dezorganizarea și distrucția colagenului aparatului ligamentar), apariția leziunilor ulcerative la nivelul epiteliului pungilor parodontale (precedate de modificări ale joncțiunilor desmozomale și leziuni degenerative ale cheratinocitelor), toate cu progresie spre apexul dintelui. Caracteristic pentru această etapă este apariția fenomenului de osteoliză și rezorbția osului alveolar. În majoritatea cazurilor în această etapă predomină la nivelul plăcii dentare Bacteroides gingivalis. Progresiv întreg parodonțiul devine lezat cauzând pierderea dintelui.

Imunopatologia bolii parodontale este foarte complexă, insuficient de elucidată și datele achiziționate furnizează variate ipoteze, care nu pot fi aplicate decât prin individualizarea și particularizarea fiecărui caz.

Constatări imunohistochimice atestă, în gingivite

Scanned with OKEN Scanner

predominanța limfocitelor T, asociate cu un procentaj redus de macrofage și limfocite B, în timp ce în periodontitele cronice componența infiltratului imunonuclear variază destul de mult, în privința predominanței plasmocitelor. Utilizarea $F(ab')_2$ izotop monospecifice indică o predominență a celulelor producătoare de IgG, față de IgA și IgM.

Utilizarea anticorpilor monoclonali au indicat un element important: prezența limfocitelor T și a macrofagelor în corionul din vecinătatea membranei bazale a epiteliului, și a limfocitelor B și plasmocitelor în corionul mai profund.

Prin structura și componentele celulare periodontul poate fi sediul inițierii și desfășurării unui răspuns imun, de tip celular sau de tip umoral. Periodontita cronică reprezentând interacțiunile dintre agenții imunogeni și sistemele de apărare ale organismului se poate datora dereglării unui răspuns imun, fie în sensul intervenției unei supresii fie a unei hiperreactivități în sensul reacțiilor de hipersensibilitate. În vederea elucidării acestor probleme numeroase cercetări au adus o serie de date importante privind funcționalitatea fiecărui component celular în boala parodontală.

Macrofagele s-au dovedit a avea potențial fagocitar de prezentare a antigenului și de modulare a răspunsului imun. Pe populații de macrofage obținute de la bolnavi s-au evidențiat două subpopulații. O categorie este predominant sintetizantă de Il_1, altă categorie predominant producătoare de PG de tip E (PGE_1 și PGE_2).

Il_1 moleculă inductoare și stimulantă se produce prin stimularea macrofagelor de către limfocitele T_4, dar și de către complexe imune, lipopolizaharide, fragmente de perete de bacterii gram negative. Cantitatea de Il_1 este crescută în fluidul gingival la bolnavi, comparativ cu subiecții sănătoși. Este de menționat însă că pe lângă macrofage și cheratinocitele produc Il_1 atât spontan cât și sub acțiunea lipopolizaharidelor. S-a dovedit că Il_1 intervine și în procesul de remodelare osoasă influențând atât osteosinteza cât și osteoliza.

PGE sunt vasoactive, determinând vasodilatație și creșterea

Scanned with OKEN Scanner

permeabilității capilare, potențând activitatea histaminei și a bradikininei. În același timp stimulează rezorbția osoasă și diminuă producția de colagen. Rolul imunosupresor al PGE_1 și PGE_2 este evident prin stimularea limfocitelor Ts și interferarea cu Il_2. Fluidul gingival al bolnavilor conține cantități crescute de PGE_2, indicând un potențial supresiv local. De altfel, inducerea medicamentoasă (ex: indometacin) a diminuării sintezei de PGE, are efecte terapeutice favorabile în unele cazuri de periodontită cronică, oprind evoluția dezvoltării pungilor parodontale, și a rezorbției osoase.

Limfocitele T_4 și T_8 recoltate de la nivelul gingiei au proprietățile generale ale acestor categorii de celule. La bolnavii cu forme agresive evolutive s-a constatat o diminuare a răspunsului proliferativ "in vitro" față de bacteriile parodontogene. Aceste observații susțin o reglare deficitară a limfocitelor T la bolnavi. Se remarcă de asemenea o scădere locală a raportului T_4/T_8. Creșterea activității T supresoare se poate explica prin concentrația antigenică locală mare, efectul complexelor imune și creșterea nivelului producerii de prostaglandine.

Limfocitele B, responsabile după activare se sinteza de anticorpi sunt prezente în gingie. Anticorpii împiedică aderența și colonizarea cu germeni a suprafeței epiteliului. Rolul protector al anticorpilor IgA salivari și IgG serici a fost indubitabil dovedit pe modele experimentale, și în menținerea unei impermeabilități a șanțului dentogingival față de unele molecule (ex: peroxidaza de hrean vizibilă la microscopul electronic). Rezultatele asupra nivelului anticorpilor serici la bolnavii cu periodontită cronică sunt foarte diferite și greu de interpretat. În general însă s-a constatat o scădere a titrului de anticorpi serici la bolnavii cu forme severe.

Întreaga gamă de observații, experimente și rezultate obținute permit să se considere că în boala parodontală există o importantă intervenție a diferite mecanisme imune. Aceste mecanisme este foarte posibil că acționează în raport cu stadiul evolutiv al bolii determinând existența unor perioade de stabilizare (mecanisme protectoare) și pusee evolutive (mecanisme patogene).

Fazele inițiale pot fi explicate prin intervenția unei

Scanned with OKEN Scanner

hipersensibilizări mediate celular (tip IV) cu participarea celulelor Langerhans cu o similitudine a mecanismelor care operează în dermatita de contact. În această fază se realizează infiltratul limfo-monocitar, și se realizează o creștere a permeabilității epiteliului gingival, care permit o largă pătrundere a antigenelor derivate din flora parodontogenă a plăcii dentare.

Se induce astfel un răspuns imun de tip umoral, cu exces de antigene locale care stimulează progresiv activarea limfocitelor B, creșterea numărului de plasmocite și sinteză crescută de anticorpi, în sistemul imun local (IgA și general IgG și IgM). În următoarea succesiune pot apare reacții de hipersensibilitate de tip II și III generatoare de numeroși mediatori și imunomediatori. Inducția unei imunosupresii locale poate fi responsabilă de apariția formelor agresive rapid evolutive.

În desfășurarea proceselor imunopatologice intervin și factori imunomodulatori rezultați din placa dentară (activatori policlonali, inductori de rezorbție osoasă etc.).

Se poate deci considera că în prezent există acumulate suficiente date pentru a susține intervenția mecanismelor imune în boala parodontală, dar există încă divergențe de opinie privind imunopatologia acesteia (figura 37).

Periodontita juvenilă apare la adolescenți și debutează de obicei ca formă localizată, care poate progresa spre generalizată. Etiologic, principalul factor este Actinobacilus actinomycetem comitans. Boala are caracter ereditar, și pare să fie de tip autosomal recesiv. Ca și în periodontita adultului boala are evoluție progresivă până la rezorbție osoasă.

Elementul cel mai caracteristic al bolii este prezența unui defect de chemotaxie și fagocitoză care interesează în special granulocitele neutrofile. Aceasta se datorește producerii de către agentul etiologic al unui limfotoxine. În formele localizate s-au evidențiat anticorpi specifici cu efect de neutralizare a limfotoxinei. Este probabil că boala apare la persoane care dezvoltă un răspuns imun slab sau moderat față de agentul etiologic. În formele generalizate s-a evidențiat și B. gingivalis, bacterie proteolitică, cu mare virulență și potențial osteorezorbtiv.

Scanned with OKEN Scanner

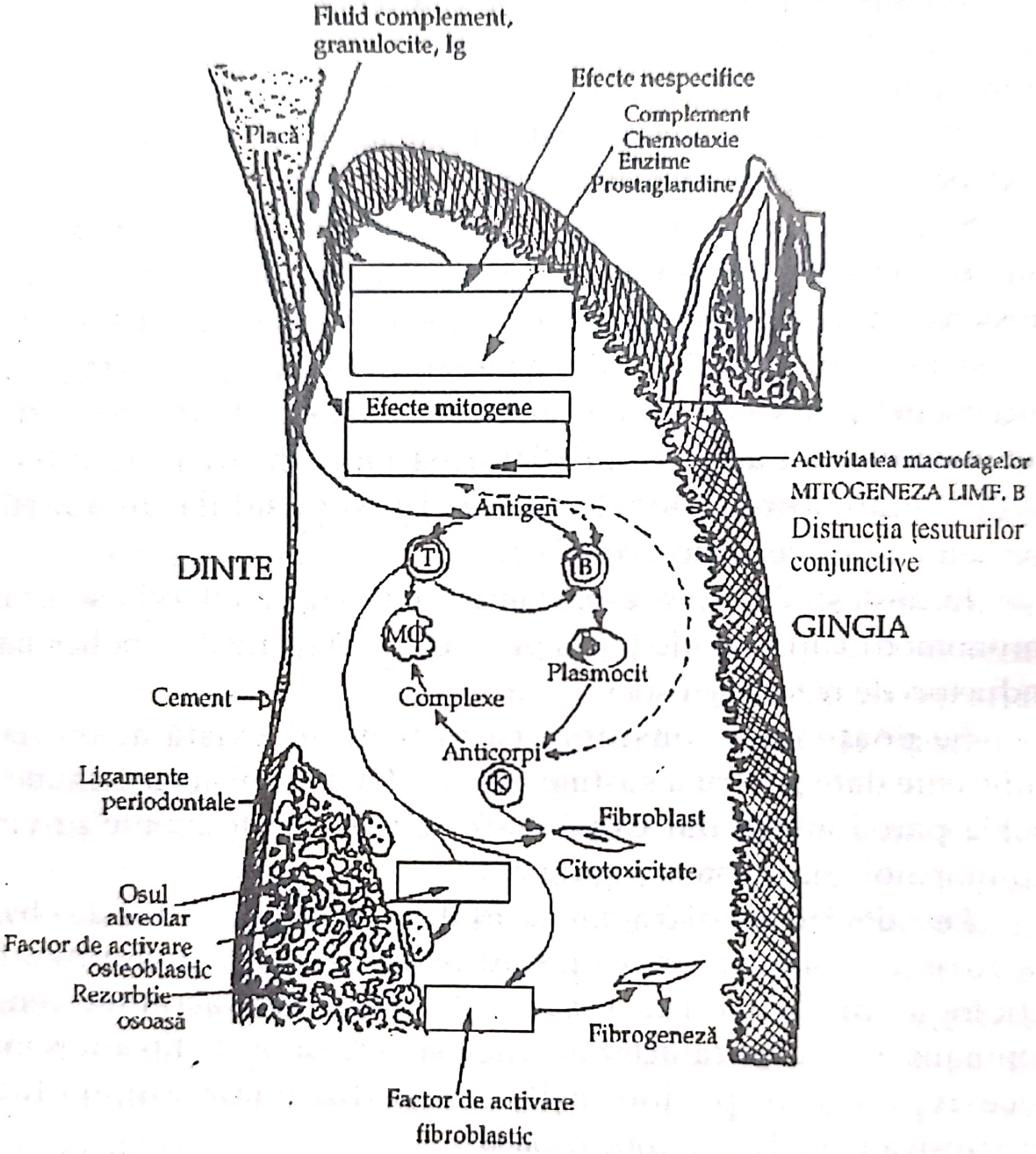


Figura 37 - Patogeneza bolii parodontale

Scanned with OKEN Scanner

CARIA DENTARĂ

Studii populaționale demonstrează o prevalență foarte ridicată a cariei dentare care atinge 95% sau chiar peste, în raport cu zona geografică, condițiile social-economice și nivelul educațional al po-pulației. Această boală reprezintă deci o importantă componentă în problematica stării de sănătate a populației, și se apreciază că în tratamentul ei costurile sunt dintre cele mai ridicate.

Morfopatologic caria dintelui poate fi definită ca o leziune distructivă a țesuturilor mineralizate ale dintelui, urmată de o pierdere de substanță localizată, cu formarea unei cavități cu caracter progresiv, fără potențial regenerativ. Leziunea începe prin de-mineralizarea smaltului, apoi a dentinei, sub efectul unor substanțe acide urmată de degenerarea matricei organice. Substanțele acide sunt rezultatul unor procese fermentative ale glucidelor alimentare. Susceptibilitatea producerii leziunii este diferită, fisurile (lamelele) smaltului și zonele interdentare fiind mai frecvent afectate. Prin evoluția în profunzime, caria dentară poate determina degenerarea locală a smaltului și dentinei până la determinarea unei soluții de continuitate între mediul bucal și camera pulpară, determinând astfel inflamația pulpei dentare cu toate consecințele, apariția pulpitei.

Caria dentară, boală infecțioasă

Intervenția unor mecanisme imunologice în etiopatogenia cariei dentare, presupune demonstrarea unei componente infecțioase și a intervenției unor imunogene care să declanșeze un răspuns imun.

În conformitate cu elementele definitorii ale unei boli

Scanned with OKEN Scanner

infecțioase elaborate de R. Koch se impune ca:

- agentul patogen infecțios să fie prezent în toate cazurile bolii respective;
- agentul patogen să poată fi izolat la bolnav și să poată fi cultivat;
- boala să poată fi reprodusă prin injectarea culturii la o gazdă sănătoasă.
- agentul patogen să poată fi evidențiat în organismul infectat experimental;
- agentul patogen să inducă o creștere a efectorilor răspunsului imun (ex: anticorpi).

În lumina acestui concept s-a cercetat caracterul infecțios al cariei dentare.

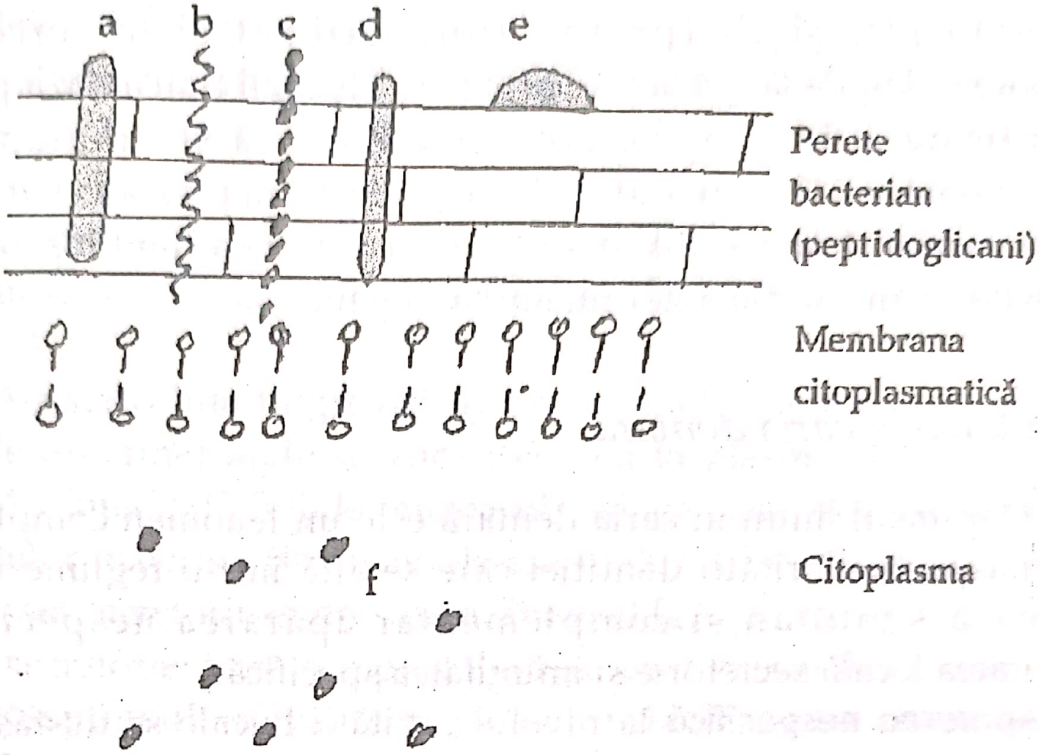
Principalul agent infecțios care a putut fi în mod cert și foarte frecvent demonstrat este *streptococul mutans*. În unele cazuri s-au mai izolat lactobacili și diferite microorganisme din familia Actinomyces, astfel că s-a ajuns la ideea existenței unei flore *cariogene*.

Toate aceste microorganisme se caracterizează prin capacitatea lor de a coloniza placa dentară, de a determina un mediu acid (pH 4) în prezența unui mediu bogat în glucide. Astfel la animale au putut fi izolate S. mutans, S. sanguis, Lactobacilus acidofilus, Actinomices viscosus. Experimental pe animale axenice cel mai cariogen este S. mutans. Această bacterie acidogenă, non-hemolitică are proprietatea de a produce atât intra cât și extracelular polizaharide. S. mutans este prezent în placa dentară și în cantități mari la nivelul cariei dentare. Izolarea și utilizarea sa răspunde complet postulatului Koch (figura 38).

Transmisibilitatea cariei dentare prin streptococ mutans a fost demonstrată atât experimental cât și la om.

Pe animale "germ free", inocularea intrabucală a bacteriilor cariogene (în special streptococi) induce apariția cariei dentare; cel mai susceptibil animal s-a dovedit a fi hamsterul. În același timp realizarea unui contact între animalele "germ free" și animalele obișnuite (cu floră bacteriană bucală) determină apariția cariei la primele.

Scanned with OKEN Scanner



a = proteina; b = polizaharid; c = acid lipoteichoic;
d = glicoziltransferaza; e = glucan; f = granule de amilopectină.

Figura 38 - **Reprezentarea schematică a învelișului str. mutans**

Studii bacteriologice în familii au demonstrat pe baza analizei biotipice a streptococului mutans, au același biotip la mamă și copil. Aceste studii au evidențiat și faptul că streptococul mutans este prezent doar în cavități bucale cu dinți, deci nu apare decât după erupția dinților.

Rolul major al streptococului mutans în geneza cariei dentare este evidențiat și de faptul că determinări cantitative au demonstrat un număr mult mai mare de astfel de bacterii în placa dentară prezentă la nivelul cariei, comparativ cu cea de pe suprafețele indemne ale dinților.

Antigenele str. mutans

Pe baza cercetării diferitelor serotipuri (a-h), serotipul c este cel mai frecvent evidențiat în caria umană, ca și în placa dentară. Din punct de vedere imunologic componentele proteice s-au

Scanned with OKEN Scanner

dovedit a fi antigenice; au fost izolate și caracterizate antigenele denumite I/II și III (primul fiind utilizat și în cercetări experimentale). Pe lângă aceste proteine, glucozil transferaza poate fi implicată și în proprietatea de aderare a str. mutans pe suprafețele dure. Fenomenul este mai puternic în prezența sucrozei și dextranului. Antigenul I/II a fost caracterizat ca fiind o proteină de 185 000 grm, cu doi determinanți antigenici.

Imunitatea în caria dentară

Răspunsul imun în caria dentară este un fenomen complex și datorită particularității dentiției care se află într-o regiune unde operează simultan și complementar apărarea nespecifică, imunitatea locală secretorie și imunitatea specifică.

Apărarea nespecifică la nivelul cavității bucale se desfășoară după modelul apărării nespecifice prin factorii solubili și celulari (vezi cap. I).

S-a demonstrat că IgA secretorie activează sinergic cu lizozimul și lactoferina, și activează complementul pe cale alternativă. De asemenea, în special în fluidul sulcular au putut fi evidențiate factorii complementului ca și granulocite funcționabile (vii) capabile de fagocitoză. În privința cantității de IgA-s, nu s-au putut stabili date care să o coreleze cu intensitatea procesului carios la nivelul cavității bucale. Analizându-se însă saliva primară (produsă de glandele salivare fără amestec cu celelalte elemente fluide și celulare prezente în saliva bucală) s-a putut constata o scădere a secreției de IgA-s.

Imunitatea specifică

Este admis în mod general faptul că sistemul imun local (secretor sau al mucoaselor) funcționează într-o relativă independență față de sistemul imun sistemic.

Inducerea unui **răspuns imun local** prin anticorpi IgA formă secretorie (IgA dimer+piesa secretorie) poate să apară în două situații:

Scanned with OKEN Scanner

- stimulare antigenică locală (la nivelul cavității bucale sau a glandelor salivare anexe);

- stimulare antigenică "centrală"; este vorba despre stimularea antigenică la nivelul intestinului în special. Pe calea celulelor M din structura epiteliului intestinal antigenul stimulează sistemul imun atașat mucoaselor, selectând precursori ai plasmocitelor producătoare de IgA (adică limfocite B producătoare de lanțuri grele α).

Aceste celule migrează în toate zonele secretorii (mucoase, glande exocrine) unde se vor diferenția în plasmocite sintetizante de IgA dimeric. Epiteliile mucoaselor și ale canalelor excretorii ale glandelor exocrine (inclusiv ale glandelor salivare) producătoare ale piesei secretorii, endocitează dimerul IgA, pe care-l cuplează cu piesa secretorie, acest complex fiind exocitat prin polul apical.

Răspunsul salivar este potențat dacă concomitent au loc ambele forme de stimulare, locală și centrală.

Răspunsul imun sistemic este caracterizat prin producerea de anticorpi serici IgG, IgM și IgA, consecință a stimulării sistemului imun prin antigeni solubili, circulanți în umorile organismului. Prin difuziune de la nivelul capilarelor corionului mucoasei bucale acești anticorpi pot apare în saliva cavității bucale.

Șanțul dentogingival realizează un inel în jurul dintelui care conține fluidul sau lichidul sulcular (crevicular) conține pe lângă alte elemente factori ai sistemului complement, leucocite în special PMN și importante cantități de Ig, într-o concentrație de aproximativ 1/2-2/3 față de concentrația din ser.

Cercetări populaționale, pe loturi riguros selectate au dovedit că indivizii cu o istorie caroasă redusă (puține carii în antecedente) prezintă un titru ridicat de anticorpi anti str. mutans în comparație cu indivizii cu o istorie carioasă importantă în antecedente. În toate aceste cercetări au fost excluse persoane care prezentau la data examinării carii dentare chiar superficiale.

Diferențele semnificative se referă în primul rând la anticorpii IgG_1 și IgG_2 anti antigen streptococic I/II. IgM și IgA seric nu au prezentat diferențe semnificative.

Testarea subiecților cu carii prezente în momentul exa-

Scanned with OKEN Scanner

minărilor serologice au demonstrat creșterea titrului de anticorpi IgG antistreptococ mutans dar mai puțin a anticorpilor IgM și IgA.

Aceste rezultate sunt în perfectă concordanță cu conceptul de boală infecțioasă a cariei dentare.

Este însă de remarcat faptul că față de alți agenți bacterieni cariogeni (str. sanguis, str. salivarius, actinomices viscosus, lactobacili) nu s-au putut stabili corelații semnificative între istoria carioasă a subiecților și titrul seric al anticorpilor specifici.

Imunizarea naturală față de ag. str. mutans

Date experimentale (efectuate în principal pe maimuțe) și observații pe persoane indică câteva căi posibile pentru imunizare față de antigenele str. mutans.

Calea pulpară: se pare a fi cea mai importantă. Instilarea de str. mutans în cavități practicate până la nivelul dentinei, la maimuțe au demonstrat creșterea titrului de anticorpi. Aceste experimente sunt susținute și de observații pe persoane; la pacienții cu carii în evoluție titrul anticorpilor este ridicat și începe să scadă după obturarea cariei.

Calea gingivală: în special la nivelul inserției epiteliale, unde lipsește orto și paracheratinizarea, epiteliul este permeabil permițând pătrunderea antigenelor înspre vasele capilare ale corionului. Această cale este în directă corelație cu numărul de str. mutans prezenți în placa dentară. Pe subiecți voluntari s-a observat că neîndepărtarea plăcii (prin periaj) timp de 4 săptămâni a fost însoțită de o creștere importantă a titrului anticorpilor. După experiment, îndepărtarea plăcii a condus la revenirea titrului de anticorpi la nivelul anterior experimentului.

Nu poate fi exclusă, deși insuficient demonstrată până în prezent și o stimulare transepitelială a limfocitelor prezente în corionul mucoaselor.

Calea salivară este susținută de unele experimente în care stimularea topică a glandelor salivare minore cu str. mutans sau antigeni ai acestora determină o creștere a titrului anticorpilor

Scanned with OKEN Scanner

specifici în ser.

Indiferent de calea de imunizare utilizată în mod experimental s-a demonstrat existența unui răspuns inegal, cu caracter individual, atât la nivelul răspunsului local cât și sistemic. S-au evidențiat răspunsuri pozitive și crescute, chiar la doze mici de antigeni în paralel cu răspunsuri pozitive scăzute, indiferent dacă s-a mărit doza de antigen.

În condiții obișnuite, imunizarea naturală la om, indiferent de cale se realizează cu cantități mici de antigeni.

Experimente "in vitro" pe limfocite umane recoltate de la diverse persoane au evidențiat diferențe importante în capacitatea acestor celule de a răspunde proliferativ în culturi, în raport cu cantitatea de antigeni I/II adăugat. S-a putut concluziona astfel că, capacitatea sistemului imun de a reacționa are variații individuale, la cantități egale de antigen. Persoanele din grupa HLA Drw_6^+ răspund intens, determinând existența unui nivel crescut și eficient de anticorpi serici anti-str. mutans și reprezintă categoria populațională cu risc scăzut de a face carie dentară.

Mecanismul producerii cariei dentare

Cercetări asupra plăcii în dinamica formării ei au relevat câteva etape care se succed și care necesită prezența unor factori:

- aderența și colonizarea care presupune prezența sucrozei în mediu bucal. Dextran sucraza are proprietatea de a produce polimeri ai glucozei asemănători dextranului, deminat și glucan substanță insolubilă în apă. Glucozil-transferaza în prezența sucrozei produce de asemenea polimeri (denumiți și mutan) insolubil în apă. Cele două enzime sunt produse de str. mutans și apar extracelular. În lipsa sucrozei, enzimele bacteriene nu au substratul necesar producerii de glucan și mutan.

Prezența sucrozei, dextran sucraza induce sinteza de glucan extracelular. Receptorii de pe suprafața str. mutans determină legarea de glucan. Glucozil transferaza, care leagă și ea dextran, asociază complexul dextran sucrază-dextran.

Scanned with OKEN Scanner

- multiplicarea str. mutans și colonizarea plăcii se realizează prin mai multe mecanisme posibile: aderența continuă bacteriană, aglutinarea bacteriilor libere la cele atașate mediată de receptorii pentru glucan și mutan, creșterea și multiplicarea streptococilor în mediul format.

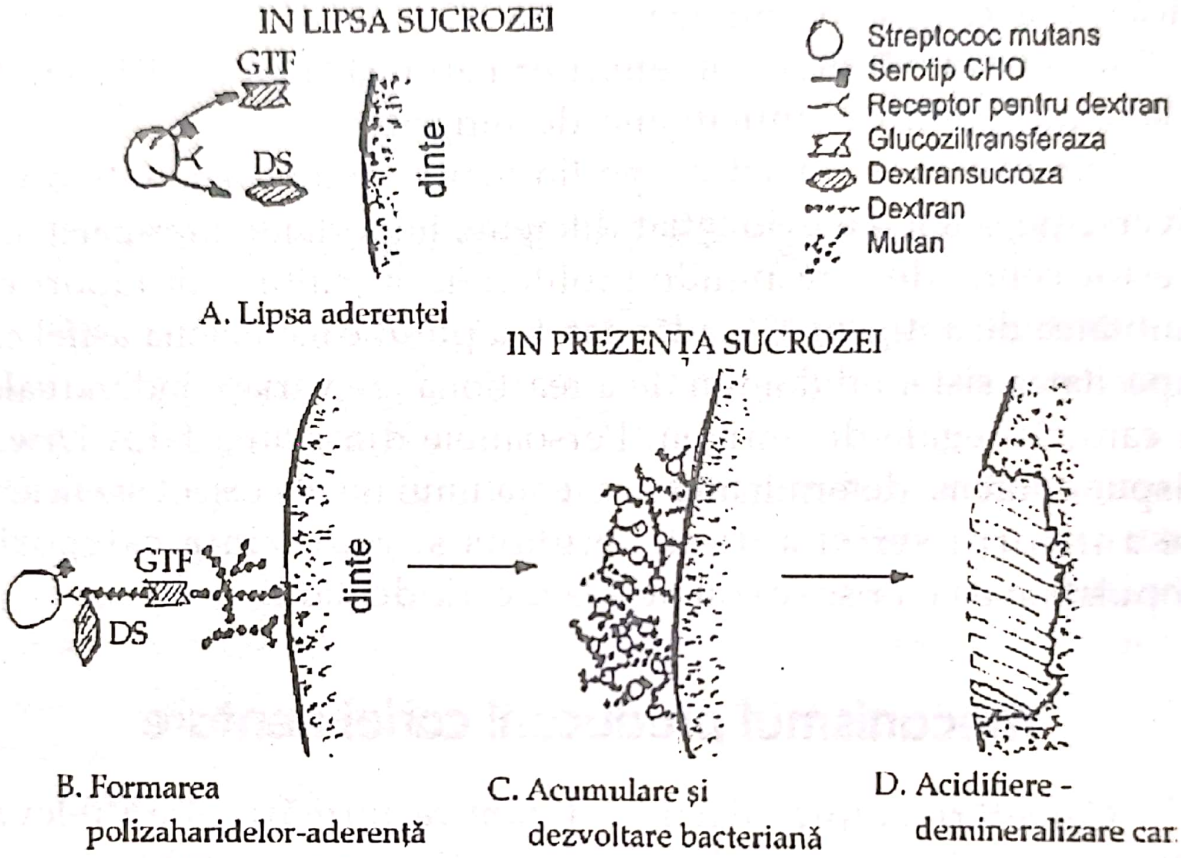


***Figura 39* - Factori implicați în fenomenul de aderență prin polizaharide**

- crearea mediului acid prin metabolizarea glucidelor de către bacteriile aderente cu producere de acid lactic, cu proprietăți demineralizante (figura 39).

Aceste mecanisme se intrică și se amplifică în dinamica lor.

Mecanisme ale acțiunii anticorpilor

Inhibarea aderenței, dovedită experimental atât prin IgAs cât și prin IgG. Aceasta se realizează datorită anticorpilor anti glucoziltransferaza. Se mai adaugă reducerea hidrofolicității moleculelor

Scanned with OKEN Scanner

de suprafață a bacteriei prin legarea anticorpilor de acestea, inclusiv de acidul lipoteichoic, consecința fiind reducerea încărcării negative. Blocarea receptorilor pentru glucozil transferaza legată pe suprafața bacteriei, intervine de asemenea.

Anticorpii anti str. mutans I, I/II și III au proprietatea și de a se lega pe hidroxiapatită, inhibând astfel aderența.

Inhibarea activității enzimatice este produsă în principal de IgA față de glucozil transferază. În acest fel se blochează producerea de polimeri glucidici insolubili (glucan, mutan).

Opsonizarea cu IgG a str. mutans facilitează fagocitoza bacteriei de către fagocitele prezente în fluidul crevicular.

Liza prin complement, toate componentele sistemului fiind prezente în fluidul crevicular. Activarea poate fi realizată pe ambele căi.

Între mecanismele de apărare trebuie menționate și unele componente ale salivei: mucinele, lactoferina, lactoperoxidaza și lizo-zimul, care interacționează și sunt potențate de IgA secretorie.

În concluzie se poate afirma natura infecțioasă a cariei dentare și transmisibilitatea ei. Răspunsul imun are rol benefic în apărarea organismului față de caria dentară.

Nu trebuie omiși însă ceilalți factori: **calitatea smalțului** (gradul de mineralizare și conținutul său în fluoruri) și necesitatea **prezenței glucidelor** în mediul bucal, strict necesar pentru dezvoltarea, atașarea str. mutans și dezvoltarea plăcii.

Profilaxia cariei dentare trebuie să vizeze toți cei trei factori, rol important atribuindu-se imunizării active, care s-a dovedit de eficiență în condiții experimentale. Imunizarea trebuie să se adreseze sistemului imun sistemic și celui local, ceea ce presupune o mai bună cunoaștere a tuturor componentelor antigenice ale bacteriilor cariogene.

Scanned with OKEN Scanner

ASPECTE IMUNOLOGICE ALE NEOPLAZIILOR

Progresele realizate în imunologie, ca și în alte științe fundamentale, pe baza aplicării tehnicilor de recombinare ADN, a anticorpilor monoclonali etc., au condus la o mai bună înțelegere a multor procese patologice, implicit a celor imunologice implicate în apariția, dezvoltarea și evoluția neoplaziilor maligne.

Procesul neoplazic malign se caracterizează prin dezvoltarea unei (mai rar a mai multor) clone celulare, care proliferează anarhic, ca urmare a scăpării de sub controlul diferențierii celulare într-un organism pluricelular adult; rezultatul este apariția unui țesut cu o organizare anormală, "improprie" organismului gazdă, cu potențialul invaziv și de metastazare.

Alterările metabolice celulare determină codificarea de noi molecule structurale în diferite compartimente celulare (ale neoformațiunii) care se comportă ca potențial imunogeni, determinând declanșarea unui răspuns din partea sistemului imun al gazdei.

Numeroase cercetări experimentale fundamentează realitatea unui răspuns imun benefic (rejecția tumorii); rămâne însă incomplet elucidată similitudinea și realitatea acestui fenomen în patologia tumorală.

După condițiile de apariție, neoplaziile experimentale și umane pot fi grupate:

- spontane, în care factori cancerigeni nu pot fi evidențiați;
- induse, care apar la organisme expuse la factori cancerigeni cunoscuți, (unele neoplazii spontane sunt în realitate induse de factori cancerigeni necunoscuți sau nedemonstrați);
- transmise pe "orizontală" sau "verticală" prin factori contagioși, respectiv ereditari; fenomenul este evident demonstrat în condiții experimentale și este foarte probabil o realitate în

Scanned with OKEN Scanner

patologie.

În procesul de carcinogeneză există o alterare inițială, faza de *inițiere*, la nivelul genomului celular, care poate fi uni sau pauci celulară; este considerată insuficientă pentru dezvoltarea unei neoplazii. Favorizarea dezvoltării clonei/clonelor cu potențial proliferativ anarhic este consecința intervenției unor factori *promotori* (co-carcinogeni); aceștia concură la perturbarea mecanismelor reglatoare ale diferențierii și proliferării, pe de-o parte, și a celor imunologice (de apărare) pe de altă parte.

Sub influența unor factori diverși (mutații somatice, distrucția populațiilor celulare mai puțin rezistente) are loc un proces de *selecție* celulară, care determină în final existența unei populații celulare care scapă apărării antitumorale și probabil terapeuticii.

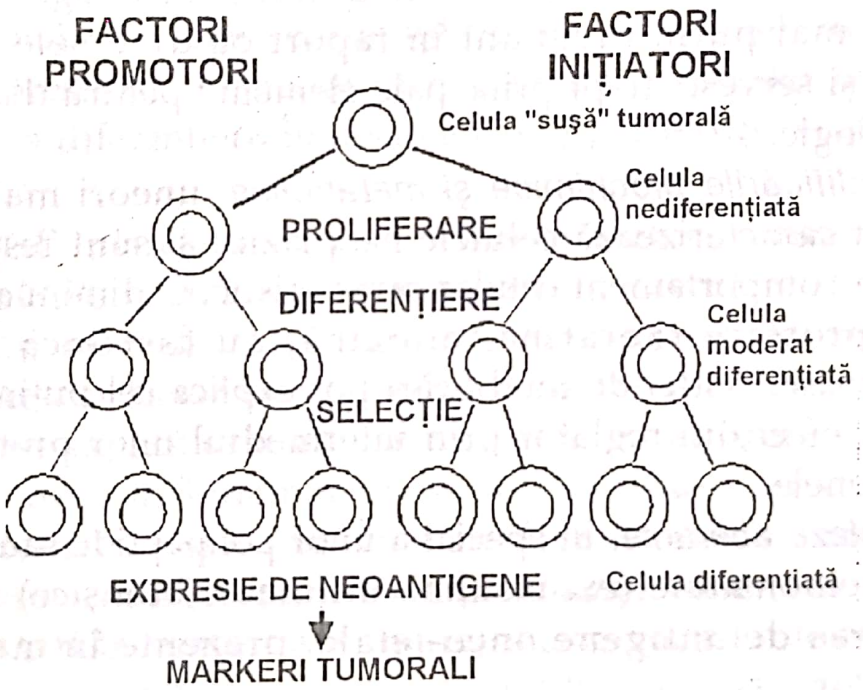
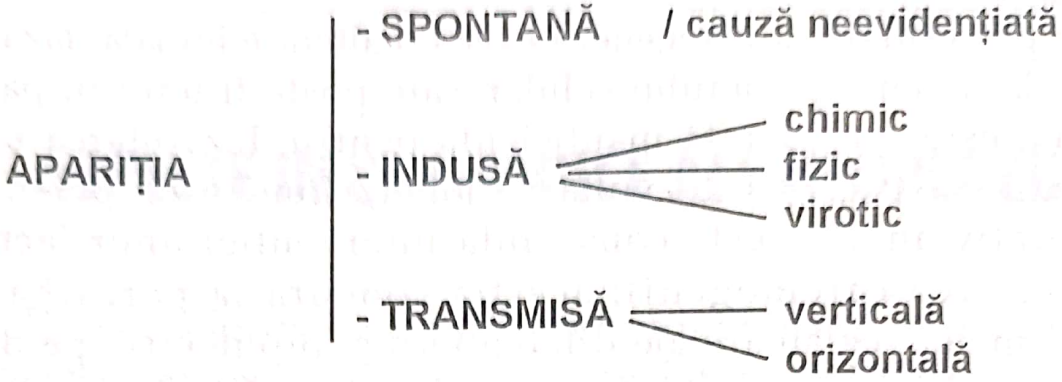


Figura 40

În concepția lui Burnet a "supravegherii imunitare", majoritatea celulelor tumorale cu potențial malign sunt recunoscute și eliminate de sistemul imun, încă din etapa apariției lor. Fenomenul implică existența la nivelul acestor celule a unor determinanți antigenici "non-self", capabili de a induce un răspuns imun benefic în situația existenței unui sistem imun funcțional in parametri fiziologici.

Scanned with OKEN Scanner



A. Principalele caracteristici ale celulelor tumorale.

Expresie a complexelor perturbării induse de factorii cancerigeni în celulele tumorale, modificările histologice apar mai mult sau mai puțin pregnant în raport cu diversele tipuri de neoplazii și servesc drept principale elemente pentru diagnosticul histopatologic.

- *Modificările biochimice şi metabolice*, uneori mai greu de evidențiat caracterizează celulele neoplazice și sunt responsabile pentru un comportament celular caracteristic. O diminuare a unor sinteze proteice (keratină, miozină) au fost încă în stadii precanceroase. Astfel de modificări pot explica cel puțin în parte, pierderea efectului reglator prin intermediul unor proteine cum sunt chalonele.

- *Sinteze aberante*, în special a unor polipeptide sau proteine, au fost demonstrate (ex: insulina în tumori bronșice) și explică producerea de antigene onco-fetale, prezente în majoritatea neoplaziilor.

- AFP (alfa-feto-proteina) glico-proteină reglatoare produsă în principal în ficat în viața embrionară a fost evidențiată în serul bolna-vilor cu neoplasm. Prezența acestei molecule după 3 săptămâni de viață extrauterină indică un proces tumoral (hematon, teratom ovarian, testicular). AFP poate fi prezentă însă și în hepatopatii cronice.

- ACE (antigenul carcino-embrionar), a fost de asemenea evidențiat în serul bolnavilor cu neoplazii diverse, (colon, pancreas, endometru, cervix). Unele studii recente indică și un

Scanned with OKEN Scanner

potențial în metastazare a acestor glico-proteine, influențând fenomenele de adeziune celulară. Uneori, însă și această proteină poate fi prezentă în boli ale aparatului digestiv.

Antigenele onco-fetale s-au dovedit a fi și cu potențial inductor de toleranță, în consecin(ă cu efecte imunosupresoare, evidente mai ales în grefa hemialotipică fetală.

În categoria moleculelor sintetizate de celulele tumorale se înscriu și *factori de creştere* (stimulanți ai proliferării celulare) și *proteine transformante* (cu efecte de tip paracrin).

- TGF-alfa (transforming-growth factor), similar EGF (epidermal derived growth factor), au efecte mitogene în special asupra celulelor transformate;

- TGF-beta, holopolimer, este produs în condiții fiziologice de placentă, limfocite T activate, dar apare în tumori maligne mezenchimale. Pe lângă efecte mitogene, acest factor are și efecte imuno-supresoare, în special prin inhibarea expresiei receptorilor pentru Il_2, a diferențierii limfocitelor B în plasmocite și a activității NK.

- PDGF (platelet derived growth factor), sintetizat fiziologic de către plachete, endotelii și musculatura vasculară, este produs în cantități mari de către tumorile mezenchimale. Stimularea sintezei acestui factor este realizată de către TGF-beta, iar efectul mitogenic se explică prin activarea unor protooncogene (C-onc).

- Factori anti-inflamatori/imuno-supresori, apar în cursul evoluției tumorilor și explică în mare parte ineficiența răspunsului imun antitumoral. Printre aceștia *prostaglandinele* (evidențiate în cantități mari în tumorile mamare) inactivează limfocitele T_4, și activează limfocitele T_8 supresoare. Inhibitorii ciclooxigenării ac. arachidonic (indometacina) induc o încetinire a creșterii tumorale in vitro și in vivo. În prezent se cunosc mulți astfel de factori care concură la instalarea unei imunosupresii induse de însăși prezența tumorii. Au fost descriși de asemeni factori angiogenetici și enzime favorizante a extinderii și metastazelor.

- *Modificări membranare.* Explicabile prin perturbările metabolice intracelulare, aceste modificări sunt esențiale în determinarea de noi catactere fenotipice implicate în imunitatea

Scanned with OKEN Scanner

tumorală.

- Modificările nespecifice (concentrația glicosfingolipidelor, a acidului sialic, sensibilitatea modificată a receptorilor pentru Con.A.) explică în parte perturbări în mecanismele comunicării intercelulare.

Modificările specifice se reflectă prin apariția *antigenelor tumorale*. Studiul neo-antigenelor tumorale se bazează în principal pe analizele efectuate asupra tumorilor induse experimental prin carcinogeni chimici și virali.

S-a observat astfel că virusurile oncogene induc antigeni proprii indiferent de tipul tumorii și localizarea ei; agenții chimici induc antigeni proprii tumorii, individului și localizării, ei nu apar la aceeași substanță, în aceleași localizări și la alți indivizi, (antigeni individuali).

În patologie, melanoamele sunt similare ca și comportament antigenic, tumorilor chimic-induse. În sfera ginecologică mai bine studiate au fost neoplasmele virus-induse. Unele tulpini ale papiloma-virusurilor, par să aibă rol important oncogenetic. Anticorpii față de proteina E7 a papiloma-virusului apar frecvent la bolnavele cu carcinom cervical. Fără a fi implicat în geneza cancerului de col uterin, anticorpii anti herpes-virus II sunt frecvenți la bolnave cu același tip de carcinom. Există însă și cercetări care tind să infirme rolul carcinogenetic al papiloma-virusului, susținând că țesutul neoplazic facilitează dezvoltarea acestui tip de virus. Numeroase lucrări experimentale au demonstrat că neo-antigenii tumorilor spontane sau chimio-induse au, în general o imunogenicitate mai redusă, fapt explicabil prin apariția lor pe celule imature, incomplet diferențiate; apare astfel noțiunea de *antigene de diferențiere*.

Antigenele TSTA (tumor-specific transplantation antigen) și TATA (tumor associed transplantation antigen), prezente pe membranele celulelor transformate sunt intens imunogene, capabile de a induce rejecția tumorilor experimentale, transplantate pe gazde prealabil imunizate. În raport cu gazda și particularitățile modelului experimental ele pot induce toleranță. TATA exprimate de tumori chimic induse sunt mai imunogene, stabile și mai omogene din punct de vedere celular. În raport cu

Scanned with OKEN Scanner

doza, aceste tumori pot fi inițial multicentrice, deci policlonale; prin transplantări repetate heterogenitatea se restrânge și apare o omogenitate relativă, care rezultă din selectarea celor mai rezistente și agresive clone. Din acest puact de vedere se diferențiază de neoplaziile umane.

TATA sunt exprimate uneori de celule epiteliale non-maligne, mucine, proteine din globulele lipidice ale laptelui, iar la specia umană apar frecvent în carcinomul ovarian. Prin desprinderea lor de pe suprafața celulară, acești agenți generează anticorpi decelabili în ser cu importanță în diagnostic și monitorizare clinică.

Fixarea anticorpilor pe TATA poate determina redistribuția sau chiar dispariția acestora, proces recunoscut ca "modulare antigenică". Acest proces poate fi important în fenomenul de "scăpare" față de răspunsul imun, și poate explica ineficiența terapeutică.

SCC (squamous cell-carcinoma antigen), reprezintă o moleculă antigenică prezentă pe celulele carcinomului malpighian. Descris de Kato și Torigoe (1977) sub denumirea de TA-4 acest antigen apare în lêziuni inițiale în proporție de 30%-40% și atinge 100% în stadiile avansate (IV); el reapace în 50%-80% din cazurile de recidive, fiind un bun indicator al eficienței terapeuticii aplicate.

Modificările antigenelor de histocompatibilitate. Au fost demonstrate pe tumori experimentale și umane.

- Pierderea determinanților antigenici a fost evidențiată în mod evident în patologia umană (ex. boala Vacquez) și experimentală (ex. mastocitomul șoarecelui). Această modificare perturbă interrelațiile celulare în cadrul răspunsului imun, în special de tip celular.

- Modificări ale AHC de cl. I pot apare uneori în variate stadii de dezvoltare tumorală. Ele sunt probabil secundare perturbărilor metabolice și/sau unor mutații de punct la nivelul genomului codificant. Astfel acești antigeni capătă potențial aloantigenic, dar pot induce fenomenul de restricție singenică în reacția CTL și celula tumorală țintă.

- Modificări ale AHC de cl. II; mai frecvent antigene HLA-D s-au constatat prezente pe membranele unor celule tumorale (carcinomul ovarian). Prezența sa se poate datora sintezei de INF-

Scanned with OKEN Scanner

gama de către limfocitele T și NK angajate în răspunsul imun. Acești antigeni pot reprezenta ținta într-un răspuns de rejet. Prezența lor și pe celulele tumorate din carcinomul mamar ar explica prezența mare a limfocitelor CD-4 (caracteristice celulelor citotoxice față de AHC cl. II).

Aceste modificări nu au permis însă corelații cu fenomenul de proliferare a limfocitelor autologe sau cu perioada de supraviețuire în cazuri de carcinoame.

Trebuie subliniat că anomaliile menționate sunt în mod inegal prezente și repartizate, de la o tumoră la alta, și chiar în sânul aceleiași tumori. Fenomenul este explicabil ținând cont că o tumoră este formată din celule în diferite stadii de diferențiere și în diferite stadii ale ciclului celular. Din acest motiv evoluția unei tumori rezultă dintr-un fenomen de selecție a celor mai rezistente celule și a celor cu capacitate de autoîntreținere.

B. Răspunsul imun față de neoplazii

Există suficiente dovezi pentru a susține că față de o neoplazie sistemul imun al gazdei reacționează, chiar dacă eficiența răspunsului imun este insuficientă. Prezența unor infiltrate limfo-monocitare peri și/sau intratumoral este frecvent întâlnită, iar celulele prezintă caractere fenotipice de activare. În unele cazuri (carcinom celular mamar) s-au stabilit corelații evidente între nivelul și caracteristicile infiltratului și prognosticului tumorii.

- *Imunitatea concomitentă* a fost demonstrată experimental prin grefarea unui fragment tumoral mic, prelevat din tumora existentă la același animal. Grefonul mic este eliminat, fapt care pledează pentru ideea că dezvoltarea unei tumori nu este rezultatul inexistenței unui răspuns imun dar, acesta devine ineficient față de masa tumorală mare și/sau intervenția unei imuno-depresii locale la nivelul tumorii inițiale.

- *Metastazarea*, fenomen caracteristic tumorilor maligne, se manifestă foarte inegal ca intensitate de la un caz la altul. Frecvența metastazelor traduce, în fapt, cantitatea de celule desprinsă din tumoră. Fenomenul este foarte complex, sub dependența a

Scanned with OKEN Scanner

numeroși factori, dar nu poate fi contestată frecvența scăzută ca urmare a unei reacții imune față de celulele metastazante. Se apreciază că numai aproximativ 1% dintre celulele care alcătuiesc masa tumorală malignă au caracter de celule "sușe", cu capacitate de autoîntreținere și diferențiere.

Apariția multiplilor markeri tumorali în serul animalelor de experiență și a bolnavilor atestă realitatea unui răspuns imun umoral; prezența efectorilor celulari specifici, dovedesc existența unui răspuns imun mediat celular. Evidențierea și caracterizarea moleculară a multor "antigeni tumorali" (comuni și specifici), permit a se conchide că apar molecule "non-self" cu potențial imunogen. Toate aceste realități justifică efeorturile de a găsi explicații și mecanisme care determină fenomenul de "scăpare" de sub controlul sistemului imun, și creearea condițiilor de dezvoltare și evoluție a procesului tumoral malign.

C. Depășirea imunosupravegherii

Schematic, în cadrul acestui proces pot fi luați în considerare ca factori: de scăderea eficienței răspunsului imun, imunogenicitatea scăzută a tumorii, proprietățile de multiplicare celulară și creștere rapidă a celulelor tumorale, rezistența crescută a tumorii față de efectorii răspunsului imun.

- Antigenicitatea tumorii se modifică prin pierderea sau modificarea AHC cl. I ceea ce determină imposibilitatea realizării citolizei specifice. Fenomenul de citotoxicitate specifică este perturbat și în cazul lipsei (totale sau parțiale) a moleculelor de adeziune, fapt demonstrat pe unele limfoane (LFA-1) și melanoame (ICAM-1).

- Antigenele tumorale sunt timodependente și implică AHC cl. II în prezentarea lor. Pe unele linii de animale de laborator s-a putut evidenția deficitul de gene al răspunsului imun, ca și deficit la nivelul receptorului limfocitelor T față de antigenii tumorali particulari. Modificări similare nu au fost însă evidențiate până în prezent la om.

Apariția efectorilor răspunsului imun presupune un interval

Scanned with OKEN Scanner

de timp din momentul recunoașterii unui antigen. În cazul unui ritm proliferativ foarte ridicat al neoplaziei, neoformația va atinge un volum mare înaintea unei reacții imune eficiente. Deasemenea localizarea tumorii în teritorii mai puțin accesibile celulelor imunocompetente și a celor auxiliare, reprezintă un factor favorizant în dezvoltarea neoplaziei.

Numeroase cercetări indică însă intervenția unor factori care determină o stare de imunodepresie generală sau locală, cu importante repercusiuni în producerea fenomenului de "scăpare imunologică".

a) Imunodepresia preexistentă, a fost demonstrată de numeroase studii epidemiologice și experimentale. Marea majoritate a neoplaziilor apar în patologie la vârste medii sau avansate. Același fenomen este valabil și în cazul tumorilor spontane la animale de laborator. In "vitro" s-a evidențiat influența negativă a extractelor timice solubile asupra proliferării unor linii tumorale. În plus la vârstă mai avansată s-au evidențiat mai frecvente anomalii în mecanismele de reparare ale ADN, care favorizează inducerea proceselor neoplazice.

Deficitele imunitare congenitale la om și animal sunt mai frecvent însoțite de tumori. În mod similar imunodeficiențele câștigate sau induse (medicamentoase, virale), favorizează dezvoltarea neoplaziilor.

b) Imunodepresia indusă de factori oncogeni, a putut fi demonstrată atât "in vitro" cât și "in vivo". Astfel benzopirenul inhibă produ-cerea de Il_2, aflatoxina inhibă răspunsul imun umoral și celular față de antigeni timodependenți. Imunosupresia în urma carcinogenilor chimici, pare a fi datorită în primul rând activării celulelor sistemului mononuclear-fagocitar, care sintetizează factori supresori nespecifici (MSF, PGE_2, ROL); se acceptă și o amplificare a ciclo-oxigenării acidului arachidonic.

Dintre carcinogenii fizici, radiațiile ionizante (imunosupresoare și prin stimularea producerii de limfocite Ts nespecifice), radiațiile U.V., mai ales în doze mari sunt imunosupresoare prin stimularea reproducerii de Il_1 de către celulele epidermice, care induc diferențierea de limfocite T_s

Scanned with OKEN Scanner

nespecifice și antigen-specifce, care la rândul lor inhibă sinteza de Il_2 de către limfocitele T_4.

Virusurile sunt în general imunodepresoare; unele virusuri oncogene s-au dovedit a avea efecte supresoare prin scăderea sensibilității limtocitelor T față de interleuchine și reducerea activității NK (proteina P15E a retrovirusurilor).

c) Modificări legate de prezența și dezvoltarea neoplaziei. Cercetări efectuate pe celule hepatice transformate au evidențiat:

- scăderea sintezei de chalone în paralel cu scăderea sensibilității celulelor tumorale față de chalone.
- alterarea inhibiției de contact, consecință a modificărilor proprietăților fizico-chimice ale membranelor celulelor tumorale .
- producerea de factori de creștere de către celulele tumorale sau micromediul tisular învecinat (PDGF, EGF, Il_1).

Fenomenul de inhibiție (restricție) alogenică, poate fi perturbat datorită pierderii antigenicității AHC, și/sau mascării neoantigenilor tumorali prin anticorpi facilitanți.

Inducerea unei imunodepresii globale nespecifice prin însăși prezența unei neoplazii a fost dovedită atât la animalul de laborator cât și la om. Experimental s-a demonstrat o involuție timică precoce în cazuri de tumori spontane sau induse. La om este prezentă o scădere în activitatea Zn-FTS, prin diminuarea producerii sale sau existența unui inhibitor seric.

Recrutarea și activarea limfocitelor Ts - nespecifice este demonstrată de prezența în număr mare a acestor celule în limfoganglionii locoregionali, ca și în sângele bolnavilor cu unele tumori. Procesul activării se pare că este datorat complexelor imune circulante, cu antigeni tumorali; astfel de CI se constată în mod constant la bolnavi neoplazici.

Printre al factori imunosupresori se mai pot cita:

- prostaglandinele sintetizate de celulele tumorale (PGE_2, $PGF\text{-}alfa_2$) în special în carcinomul mamar;
- histamina, datorită efectului asupra limfocitelor T_s cu receptori H_2;
- serotonina (inhibitor al AHC cl. II și a receptorilor Il_2);
- factori de creștere (TGF/EGF), antigeni oncofetali, cu efecte

Scanned with OKEN Scanner

supresoare.

În paralel a fost demonstrată și o imunodepresie locală nespecifică, care apare, sub influența acelorași factori produși de celulele neoplazice.

Numeroase fapte experimentale și clinice pledează și pentru inducerea unor fenomene specifice, rezultate ale răspunsului față de antigeni tumorali.

- Toleranța imunologică se datorește producerii diminuate a efectorilor răspunsului imun, prin limfocitele Ts antigen specifice; activarea acestora se poate datora fie stimulării antigenice "de doză mică" (prezentă în special in formele de debut ale tumorii) fie prin stimulare "de doză înaltă" (în tumorile cu evoluția rapidă). Numeroase date experimentale susțin aceste mecanisme.

- Fenomenul de facilitare se datorește in mare parte prezenței în ser a anticorpilor IgG_4, care funcționează, fie ca anticorpi blocanți, fie intrând în strutura CI cu antigenii tumorali.

***

Neo-antigenicitatea celulelor tumorale este o realitate, susceptibilă de a induce un răspuns imun de tipul rejecției de grefă.

Acest răspuns, în majoritatea cazurilor nu se finalizează, asupra tumorilor constituite, datorită intervenției multiplelor fenomene supresive specifice și nespecifice.

Parte din celulele imunității, limfocitele și macrofage activate de către agenții tumorali produc factori de creștere cu efecte mitogene.

Aceste date indreaptă tentativele terapeutice în două mari direcții:

- eradicarea tumorii, sau reducerea cât mai mare a numărului de celule tumorale (chirurgie, fizio și chimioterapie).

- intervenția asupra diferitelor verigi ale răspunsului imun care caracterizează imunitatea anti-tumorală (reducerea imunosupresiei, stimularea mijloacelor naturale, nespecifice de apărare, stimularea răspunsutui imun specific).

Scanned with OKEN Scanner

Material bibliografic utilizat

1. Bach J.F., Lesavre Ph.
Immunologie. Flammarion 1989.
2. Brostoff J., Scadding G.K., Male Ð., Roitt I.M.
Immunologie Clinique de Boeck Université 1991.
3. Elgert K.D.
Immunology. Wiley-Liss Inc. 1996.
4. Faure G., Béné M.Ch., Duheille J.
Abrégé D`Immunologie Dentaire. Masson 1985.
5. Ivanyi L.
Immunological Aspects of Oral Diseases. MTP Press Limited 1986.
6. Perrin L.F., Laurent P.E.
Immunopathologie Clinique. Masson 1990.
7. Ponvert C., Paupe J., Griscelli C.
Immunologie Fondamentale et Immunopathologie. Ellipses 1991.
8. Roitt I.
Essential Immunology. Blackwel Scientific Publications. 1994
9. Roitt I.M., Lehner T.
Immunologie des Maladies de la Bouche. Simep 1987.
10. Stites D., Terr I.A., Parslow
Basic and Clinical Immunology. Pretince-Hall International Inc. 1994.

Scanned with OKEN Scanner

Scanned with OKEN Scanner

Consilier editorial: *Florentina VRĂBIUȚĂ*

EDITURA APOLLONIA

IAŞI - ROMÂNIA

Bun de tipar: 11 februarie 1997;
Tiraj: 1000 exemplare;
Hârtie tipar de 60 g/m²;
Format: bobine de 61 lățime;
Coli tipar: 7 (1/32)

●

Tipar executat sub comanda nr. 24/17 octombrie 1996 la

S.C. ALPHA CENTAUR S.R.L.

Str. Uzinei nr. 59, telefon 215910/fax 215900

Stomatologia, ca specialitate medicală, a beneficiat de acumularea cunoştinţelor de imunologie generală şi de imunopatologie, permiţându-i pătrunderi mai adânci în cunoaşterea bolilor proprii cavităţii bucale (caria dentară, boala parodontală), cât şi a bolilor generale cu componentă imună care se manifestă la nivelul cavităţii bucale.

Este de neconceput astăzi de-a înţelege medicina, indiferent de specialitate, fără a avea un solid trepied alcătuit din: biologie celulară şi moleculară, genetică şi imunologie. Aceste cunoştinţe permit practicarea unei medicini ştiinţifice, utilizarea mijloacelor de diagnostic şi investigare adecvată şi tratamente raţionale adaptate şi particularizate.

ISBN 973-95585-93

TIPAR EXECUTAT LA S.C. ALPHA CENTAUR S.R.L.
Strada Uzinei nr. 59, Iaşi

Scanned with OKEN Scanner